

**ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC CÔNG NGHỆ**

**Vũ Quốc Tuấn**

**NGHIÊN CỨU CẤU TRÚC CẢM BIẾN VI CƠ CHO DÒNG CHẢY  
KÊNH LÔNG**

Chuyên ngành: Kỹ thuật điện tử

Mã số: 62 52 02 08

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ NGÀNH ĐIỆN TỬ  
VIỄN THÔNG**

**Hà Nội–2020**

Công trình được hoàn thành tại: Trường Đại học Công nghệ,  
Đại học Quốc gia Hà Nội

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS Bùi Thanh Tùng  
GS.TS Chủ Đức Trình

Phản biện:.....  
.....

Phản biện:.....  
.....

Phản biện:.....  
.....

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng cấp Đại học Quốc gia  
chấm luận án tiến sĩ họp tại .....

vào hồi            giờ            ngày            tháng            năm 2020

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Trung tâm Thông tin - Thư viện, Đại học Quốc gia Hà Nội

# MỤC LỤC

MỞ ĐẦU .....	1
Chương 1 TỔNG QUAN VỀ PHÁT TRIỂN CHIP SINH HỌC ỨNG DỤNG TRONG PHÁT HIỆN PROTEIN .....	4
1.1.    vai trò và các kỹ thuật phát hiện protein.....	4
1.1.1    Xét nghiệm ELISA .....	5
1.1.2    Kỹ thuật hóa mô miễn dịch (IHC). .....	5
1.1.3    Kỹ thuật đếm dòng chảy (flow cytometric).....	5
1.1.4    Protein microarrays.....	5
1.1.5    Kỹ thuật sử dụng kênh vi lỏng.....	5
1.2    Tổng quan các nghiên cứu về phát triển chip sinh học và chip phát hiện protein. ....	5
1.2.1    Các nghiên cứu về chip sinh học ở trong nước...5	
1.2.2    Các nghiên cứu về chip sinh học ở nước ngoài về phát hiện protein .....	7
1.2.3    Chip vi kênh tập trung protein giúp giảm thời gian xét nghiệm và tăng khả năng phát hiện protein .....	8
1.2.4    Cảm biến sinh học kiểu trở kháng và tụ điện sử dụng các phương pháp đo điện trong xét nghiệm sinh học và xét nghiệm protein.....	9
1.3    Kết luận .....	10
Chương 2 NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN VÀ CHẾ TẠO CHIP TẬP TRUNG, CHỌN LỌC VÀ PHÁT HIỆN PROTEIN .....	10
2.2    Tập trung protein .....	10
2.2.1    Nguyên lý hoạt động của bộ tập trung protein..	10

2.2.2	Phương pháp tạo kênh nano bằng cách sử dụng điện áp đánh thủng lớp tiếp xúc.....	10
2.3	Chọn lọc và phát hiện protein sử dụng cảm biến miễn dịch kiểu tụ phẳng tích hợp trong kênh vi lỏng.....	12
2.3.1	Cảm biến miễn dịch kiểu tụ điện phẳng .....	12
2.3.2	Mô hình chung của một cảm biến miễn dịch kiểu tụ phẳng hai điện cực.....	12
2.3.3	Phương pháp đo phổ trở kháng (EIS).....	13
2.3.4	Nghiên cứu phát triển mạch đo phân tích trở kháng	13
2.4	Chế tạo chip vi kênh tập trung và phát hiện protein .	13
2.4.1	Chế tạo kênh vi lỏng.....	13
2.4.2	Chế tạo điện cực trên kính, gắn nano vàng trên phiên kính	13
2.4.3	Gắn kênh vi lỏng lên chip.....	13
2.4.4	Quy trình gắn kháng thể .....	13
2.5	Kết quả chế tạo chip .....	13
2.6	kết luận .....	13
Chương 3	KẾT QUẢ TẬP TRUNG VÀ PHÁT HIỆN PROTEIN TRÊN CHIP ĐIỆN CỰC TRÒN.....	14
3.1	Cảm biến miễn dịch tụ phẳng điện cực tròn.....	14
3.2	Thiết lập hệ đo.....	14
3.3	Kết quả tập trung protein với chip kênh vi lỏng có tích hợp cảm biến miễn dịch kiểu tụ phẳng cấu trúc điện cực tròn ở vùng tập trung.....	14
3.4	Phát hiện protein trên chip vi kênh sau khi tập trung protein bằng phương pháp đo trở kháng sử dụng mạch thiết kế...	14

3.5	Kết luận .....	15
Chương 4 SỬ DỤNG CẤU TRÚC CẢM BIẾN RĂNG LƯỢC TRONG		
PHÁT HIỆN CÁC LỚP SINH HÓA GẮN LÊN ĐIỆN CỰC VÀNG. .... 17		
4.1	Kết quả nghiên cứu cảm biến tụ phẳng kiểu răng lược tích hợp trong chip vi kênh tập trung và phát hiện protein.....	17
4.1.1	Trở kháng bề mặt ở tần số cao.....	18
4.1.2	Mô hình đo tụ của cảm biến sinh học kiểu răng lược ở tần số cao.....	18
4.2	Kết quả khảo sát cảm biến cấu trúc răng lược với các nồng độ muối PBS khác nhau .....	19
4.3	Kết quả phát hiện và theo dõi các lớp sinh hóa được hình thành trên điện cực trong quá trình gắn kháng thể. ....	19
4.4	Kết quả tập trung và phát hiện protein trên chip có cấu trúc điện cực hình răng lược.....	21
4.5	Kết luận .....	23
KẾT LUẬN.....		23
Hướng nghiên cứu tiếp theo .....		24

## MỞ ĐẦU

### Lý do chọn đề tài

Chip sinh học ứng dụng trong xét nghiệm bệnh phẩm đã phát triển rất mạnh mẽ trong những năm gần đây với mục đích thay thế cho các thiết bị xét nghiệm đắt tiền và giảm sự cồng kềnh của thiết bị xét nghiệm. Các chip sinh học dựa trên cấu trúc nano và micro cũng được phát triển với một số mục đích như giảm thời gian xét nghiệm, giảm giá thành xét nghiệm, tăng khả năng phát hiện bệnh, đáp ứng nhu cầu xét nghiệm tại chỗ hoặc theo dõi tình trạng của bệnh nhân tại nhà cũng như chăm sóc sức khỏe định kỳ và theo dõi đáp ứng trong quá trình điều trị.

Trong các loại xét nghiệm này, xét nghiệm protein đóng một vai trò quan trọng trong phát hiện và chẩn đoán nhiều loại bệnh khác nhau cũng như được áp dụng vào xét nghiệm ung thư. Các loại protein trong cơ thể người xuất hiện và tăng đột biến là chỉ dấu của một loại bệnh nào đó khi xuất hiện trong nước tiểu, máu hoặc ở mô tế bào. Việc phát hiện một lượng nhỏ của một loại protein nào đó trong mẫu phẩm có một vai trò quan trọng trong việc phát hiện sớm và chẩn đoán bệnh cũng như theo dõi trong quá trình điều trị bệnh. Do vậy, luận án này đặt ra vấn đề tiến hành nghiên cứu phát triển chip kênh vi lỏng phát hiện protein nhằm hướng tới xây dựng thành một thiết bị xét nghiệm nhỏ gọn với các ưu điểm như khả năng phát hiện với lượng lấy mẫu nhỏ, nhanh chóng, tự động và nhỏ gọn cũng như giảm giá thành của thiết bị.

### Mục đích của luận án

Luận án này nghiên cứu phát triển một hệ thống chip vi kênh tích hợp các chức năng tập trung làm giàu protein, chọn lọc protein đặc hiệu nhằm hướng tới xây dựng phát triển một thiết bị xét nghiệm nhỏ gọn cho ứng dụng chăm sóc và theo dõi sức khỏe tại chỗ.

### **Đối tượng nghiên cứu**

Đối tượng nghiên cứu bao gồm bộ tập trung protein dựa trên nguyên lý làm giàu làm nghèo ion và các nguyên lý dòng chảy điện trong kênh vi lỏng, cảm biến miễn dịch kiểu tụ điện phẳng hai điện cực tích hợp trong kênh vi lỏng nhằm bắt giữ chọn lọc và phát hiện protein và mô-đun đo và phân tích trở kháng đặc thù cho cảm biến miễn dịch kiểu tụ điện phẳng hai điện cực.

### **Phạm vi nghiên cứu**

Trong khuôn khổ luận án này, nghiên cứu sinh đi tập trung nghiên cứu chế tạo một chip vi kênh phát hiện protein bao gồm các chức năng tập trung, chọn lọc và phát hiện protein cùng với mô-đun đo trở kháng áp dụng trong việc phát hiện protein và thu thập xử lý giữ liệu. Phương pháp đo phân tích trở kháng được nghiên cứu nhằm áp dụng cho cảm biến miễn dịch kiểu tụ điện phẳng hai điện cực và được tích hợp trong vi kênh cùng với việc nghiên cứu phát triển mô-đun đo trở kháng áp dụng cho cảm biến sinh học.

### **Ý nghĩa khoa học:**

Trong luận án này, một chip có các chức năng tập trung, bắt giữ chọn lọc và phát hiện protein đã được nghiên cứu phát triển. Đối với các nghiên cứu trước đây thường tập trung vào tích hợp cảm biến

miễn dịch phát hiện protein trong kênh vi lỏng mà chưa có tính năng tập trung hoặc chỉ phát triển riêng tính năng tập trung mà chưa có tính năng chọn lọc và phát hiện.

Phương pháp đo tụ điện ở tần số cao được nghiên cứu và đề xuất áp dụng trên cảm biến tụ phẳng hai điện cực cấu trúc hình răng lược đã được phát triển nhằm phát hiện các lớp sinh hóa trong quá trình gắn kháng thể lên trên điện cực vàng. Việc tăng độ nhạy giúp cho phép đo thực hiện được ở điện áp thấp chỉ 10 mV nhằm theo dõi quá trình gắn kháng thể.

### **Ý nghĩa thực tiễn của đề tài**

Việc nghiên cứu chip protein với ba chức năng tập trung, chọn lọc và phát hiện protein sẽ tạo ra một thiết bị nhỏ gọn ứng dụng trong việc xét nghiệm tại chỗ. Cụ thể là với việc tập trung protein trong kênh vi lỏng, thời gian xét nghiệm sẽ được giảm xuống. Khả năng phát hiện cũng được tăng lên đáng kể ở cùng một lượng mẫu nhất định. Do vậy chip vi kênh có chức năng tập trung có tính ưu việt về lượng lấy mẫu xét nghiệm. Chức năng chọn lọc và phát hiện tích hợp trong kênh tạo ra khả năng tự động hóa trong xét nghiệm giúp đơn giản hóa trong quá trình vận hành. Việc tích hợp cảm biến trong vi kênh cũng tạo ra một chip hoàn chỉnh với kích thước nhỏ gọn kèm theo mạch đo trở kháng được phát triển để tích hợp với chip vi kênh tạo ra một thiết bị nhỏ gọn mở ra một hướng phát triển các thiết bị chăm sóc tại chỗ (Point of care) với giá thành rẻ thay thế các thiết bị công kênh và đắt tiền mà vẫn đáp ứng được bài toán xét nghiệm.

Nội dung của luận án bao gồm 4 chương:



**Chương 1:** Giới thiệu tổng quan về xét nghiệm protein và các phương pháp xét nghiệm protein. Để giảm thời gian xét nghiệm và tăng khả năng phát hiện thì các kỹ thuật tập trung protein bằng phương pháp làm giàu và làm nghèo ion trên nền chip vi kênh cũng được giới thiệu.

**Chương 2:** Mô tả nghiên cứu phát triển một chip protein với ba chức năng tập trung, chọn lọc và phát hiện đã được nghiên cứu. Thiết kế và chế tạo mạch đo và phân tích trở kháng áp dụng cho chip tập trung và phát hiện protein cũng như quy trình chế tạo chip

**Chương 3:** Nội dung của chương 3 trình bày các kết quả đạt được của việc phát triển chip tập trung, chọn lọc và phát hiện protein với cấu trúc chip được tích hợp cảm biến điện cực tròn.

**Chương 4:** Nội dung của chương 4 đi nghiên cứu và đưa ra giải pháp sử dụng phép đo tụ của cảm biến ở tần số cao trên cấu trúc cảm biến điện cực hình răng lược nhằm phát hiện và theo dõi các lớp sinh hóa có mặt trên điện cực của cảm biến.

## **Chương 1            TỔNG QUAN VỀ PHÁT TRIỂN CHIP SINH HỌC ỨNG DỤNG TRONG PHÁT HIỆN PROTEIN**

### **1.1. vai trò và các kỹ thuật phát hiện protein.**

Protein được cấu thành từ các loại axit amin đóng một vai trò quan trọng trong cơ thể người. Các protein giúp trao đổi chất, đóng vai trò trong hệ miễn dịch. Vì vậy, xét nghiệm protein là một xét nghiệm quan trọng trong việc chẩn đoán và điều trị nhiều loại bệnh trong đó có bệnh ung thư [2, 3, 25, 28, 64, 76, 80].

### **1.1.1 Xét nghiệm ELISA**

### **1.1.2 Kỹ thuật hóa mô miễn dịch (IHC).**

### **1.1.3 Kỹ thuật đếm dòng chảy (flow cytometric)**

### **1.1.4 Protein microarrays**

### **1.1.5 Kỹ thuật sử dụng kênh vi lỏng**

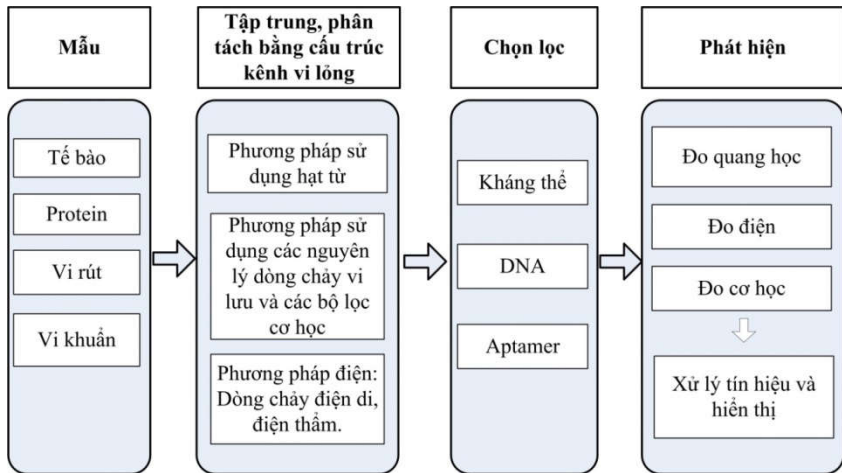
## **1.2 Tổng quan các nghiên cứu về phát triển chip sinh học và chip phát hiện protein.**

Một chip sinh học có thể bao gồm một hoặc nhiều chức năng được tích hợp trong một không gian nhỏ nhằm để phát hiện các đối tượng sinh học có thể là tế bào ung thư, protein, vi rút hoặc vi khuẩn [49]. Bảng 2 mô tả và phân loại các chip sinh học theo các chức năng của chip.

### **1.2.1 Các nghiên cứu về chip sinh học ở trong nước**

Cảm biến sinh học cũng được nhóm các nhà khoa học ở trong nước tiến hành nghiên cứu và phát triển tại các trường đại học và các viện nghiên cứu. Nhóm của giáo sư Mai Anh Tuấn tại trường đại học Bách khoa Hà Nội đã phát triển loại cảm biến sinh học dùng để phát hiện vi rút cúm bằng cách sử dụng phương pháp xét nghiệm miễn dịch trên nền tảng cấu trúc carbon- nanotubes [69],[5]. Nhóm nghiên cứu của tiến sỹ Trần Đại Lâm tại Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cũng đã và đang phát triển các cảm biến sinh học cho ứng dụng trong y tế.

**Bảng 2: Khái niệm của một chip sinh học được chia theo các thành phần chức năng.**



Dựa trên cấu trúc cảm biến điện hóa loại điện cực in, một trong những hướng nghiên cứu đã được tiến hành là sử dụng các hạt nano từ được cấy trên nền điện cực cảm biến nơi gắn các đầu dò DNA để bắt đặc hiệu vi rút HIV [53]. Nhóm của phó giáo sư Trương Thị Ngọc Liên ở đại học Bách khoa Hà Nội phát triển một cảm biến sinh học dựa trên công nghệ in điện cực carbon để thực hiện xét nghiệm miễn dịch loại HCg là một loại protein trong máu người đóng vai trò trong xét nghiệm thai kỳ và phát hiện ung thư. Kháng thể được gắn trên cảm biến giúp bắt giữ protein sau đó phương pháp đo điện hóa được áp dụng để phát hiện sự thay đổi trở kháng trên bề mặt của cảm biến [73]. Các chip sinh học đã được phát triển trong nước chủ yếu là chip xét nghiệm có bao gồm chức năng chọn lọc và phát hiện gọi chung là cảm biến miễn dịch. Hướng phát triển tích hợp cảm biến miễn dịch vào trong kênh vi lỏng của hệ thống vi chip có nhiều chức năng được tích hợp thêm như chức năng tập trung

hoặc phân tách trên nền tảng LoC hướng tới tự động hóa, giảm thời gian xét nghiệm vẫn là một hướng mở để các nghiên cứu tiếp tục được tiến hành.

### **1.2.2 Các nghiên cứu về chip sinh học ở nước ngoài về phát hiện protein**

Các phương pháp vật lý được sử dụng để phát hiện ra protein tại vùng phát hiện như phương pháp quang học và phương pháp đo điện. Phương pháp quang đã được dùng phổ biến ở xét nghiệm ELISA [16].

Bên cạnh đó, các phương pháp đo điện thường được sử dụng kết hợp với xét nghiệm miễn dịch tạo ra các cảm biến miễn dịch kiểu điện áp dụng trong việc phát hiện protein [10, 16, 17, 20, 73]. Phương pháp đo phổ trở kháng trên cảm biến điện hóa cũng được khai thác triệt để trong phát hiện protein [10, 16, 17].

Cấu trúc vi cảm biến cũng có thể được phát triển để tích hợp trong dòng chảy kênh vi lỏng. Việc phát triển các chip vi kênh cũng được áp dụng để phát hiện protein với mục đích để giảm tối thiểu lượng lấy mẫu cần thiết [20, 51]. Cảm biến miễn dịch dựa trên nguyên lý đo trở kháng tích hợp trong kênh vi lỏng đã được nghiên cứu nhằm đáp ứng được yêu cầu tạo ra các thiết bị xét nghiệm nhỏ gọn có thể xét nghiệm bệnh phẩm chỉ với một lượng mẫu phẩm rất nhỏ thậm chí chỉ cần vài nano-lít [72].

Tuy nhiên với nhu cầu giảm thiểu lượng lấy mẫu trong khi vẫn tăng độ nhạy phát hiện protein ở nồng độ thấp, một hướng nghiên cứu khác là tiến hành tập trung protein trong kênh vi lỏng trước khi

nó được phát hiện. Việc tập trung protein lại trong một vùng nhỏ sẽ giúp tăng độ khả năng phát hiện protein ở nồng độ thấp từ đó tăng khả năng phát hiện bệnh sớm.

### **1.2.3 Chip vi kênh tập trung protein giúp giảm thời gian xét nghiệm và tăng khả năng phát hiện protein**

Trong tập trung protein, các nghiên cứu trên thế giới đã phát triển các phương pháp điện để tập trung protein lại trong kênh vi lỏng [43]. Các nguyên lý được sử dụng có thể liệt kê ra như:

- A. Dòng chảy điện di**
- B. Dòng chảy điện thẩm (EOF)**
- C. Làm giàu, làm nghèo ion**
- D. Chip vi kênh tập trung protein dựa trên nguyên lý dòng chảy EOF và làm nghèo ion.**

Các hiệu ứng nêu trên đã được áp dụng vào thiết kế các chip vi lỏng dùng để tập trung protein trong một diện tích nhỏ. Phương pháp làm nghèo ion đã được phát triển để tập trung protein. Một trong những phương pháp làm nghèo là sử dụng màng lọc ion để tạo ra vùng làm nghèo ion đã được nghiên cứu và thực hiện [39].

Ngoài chế tạo kênh nano bằng cách ăn mòn lớp vật liệu đế, các cấu trúc đứt gãy nano còn có thể được tạo ra bằng cách tạo ra điện áp đánh thủng ở lớp tiếp xúc của hai loại vật liệu. Bằng cách sử dụng điện áp DC cao áp [36]. Tuy nhiên việc tạo ra kênh nano bằng đứt gãy khi phóng điện đòi hỏi phải cung cấp vào kênh một điện áp cao khoảng điện áp từ vài trăm vôn đến vài nghìn vôn tùy loại vật liệu là kính hay đế silic. Thêm vào đó, khi cung cấp điện áp cao vào kênh

cũng tạo ra nhiệt trong kênh và sôi kênh tạo bọt khí có thể gây hỏng kênh trong quá trình tập trung.

Nhóm nghiên cứu của giáo sư Chun-Pin Jen tại đại học quốc gia Chung Cheng, Đài Loan mà hiện đang hợp tác với nhóm nghiên cứu của chúng tôi tại đại học Công Nghệ, ĐHQG HN đã tiến hành nghiên cứu và cải tiến cấu trúc chip tập trung protein dựa trên phương pháp sử dụng điện áp DC thấp đánh thủng tạo cấu trúc nano đứt gãy [12, 34]. Các chip vi kênh đã được tạo ra với mục đích tập trung protein trong một vùng nhỏ giúp tăng khả năng phát hiện protein có nồng độ thấp đáp ứng với một lượng lấy mẫu rất nhỏ cỡ nano-lít đến micro-lít và đẩy nhanh quá trình phát hiện. Các chip tập trung protein nêu trên đều dùng phương pháp đo cường độ huỳnh quang để phát hiện và định lượng protein bằng cách gắn sử dụng chất phát huỳnh quang lên kháng thể đã bắt dính với protein.

#### **1.2.4 Cảm biến sinh học kiểu trở kháng và tụ điện sử dụng các phương pháp đo điện trong xét nghiệm sinh học và xét nghiệm protein.**

Cảm biến sinh học trên nền các chip sinh học đã được nghiên cứu và phát triển mạnh thời gian gần đây. Cảm biến sinh học đa phần được phát triển dựa trên xét nghiệm miễn dịch sử dụng kháng thể sinh học, DNA, Aptamer để bắt dính đặc hiệu các hạt sinh học cần được xét nghiệm như tế bào ung thư, vi rút, vi khuẩn hay protein.

Cấu trúc cảm biến tụ phẳng kích thước micro có nhiều ưu điểm như dễ dàng chế tạo với nhiều hình dạng khác nhau, thuận lợi trong việc tích hợp trong chip vi kênh và thuận tiện cho việc tích hợp

xử lý tín hiệu cũng như giá thành rẻ đã được chứng minh trong nhiều nghiên cứu. Phương pháp xét nghiệm miễn dịch cũng được thực hiện trên cấu trúc này bằng cách gắn các kháng thể trên các điện cực của cảm biến tụ phẳng để tạo thành các cảm biến miễn dịch kiểu tụ điện. Các cấu trúc cảm biến miễn dịch kiểu tụ điện đang là một ứng viên tiềm năng áp dụng cho các bài toán xét nghiệm.

### **1.3 Kết luận**

## **Chương 2      NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN VÀ CHẾ TẠO CHIP TẬP TRUNG, CHỌN LỌC VÀ PHÁT HIỆN PROTEIN**

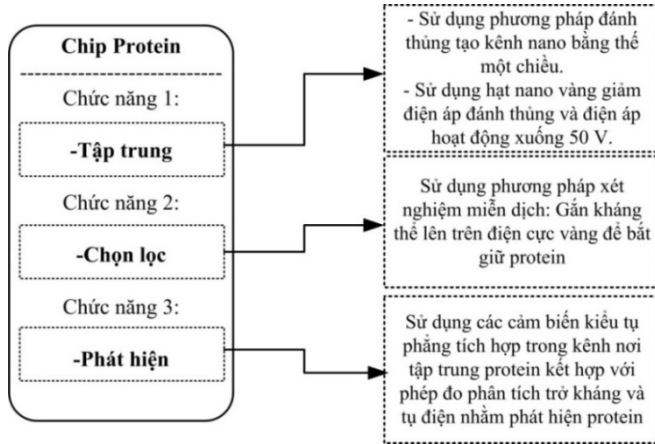
Bảng 3 mô tả các phương pháp đã được áp dụng để chế tạo ra chip protein đáp ứng các yêu cầu đã đặt ra của ba chức năng.

### **2.2 Tập trung protein**

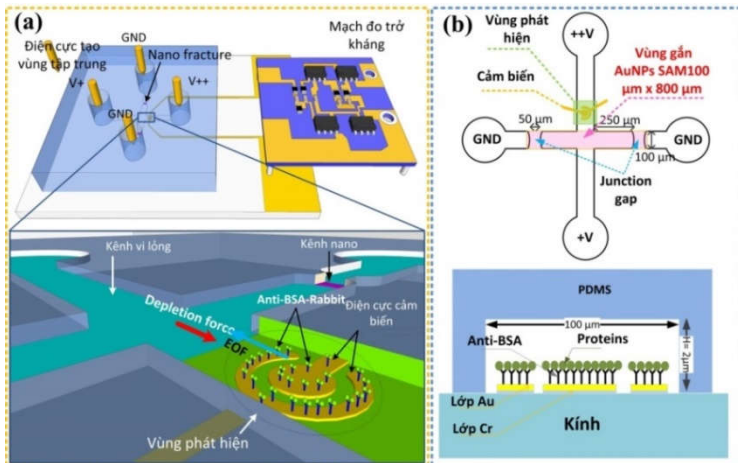
#### **2.2.1 Nguyên lý hoạt động của bộ tập trung protein**

#### **2.2.2 Phương pháp tạo kênh nano bằng cách sử dụng điện áp đánh thủng lớp tiếp xúc.**

**Bảng 3: Giải pháp chế tạo chip protein với ba chức năng được tập trung, chọn lọc và phát hiện.**



**Hình 2.1** mô tả mô hình của chip protein dựa trên cấu trúc vi kênh.



**Hình 2.1:** Mô hình thiết kế của chip tập trung và phát hiện protein, a) các kênh vi lỏng tập trung protein vào vùng bắt giữ nơi các kháng thể được cấy lên điện cực vàng, protein đã bị bắt đặc hiệu được phát hiện bằng phương pháp đo trở kháng. b) cấu trúc thiết kế của chip, kháng thể cấy lên điện cực vàng trong kênh vi lỏng có chiều cao 2  $\mu\text{m}$ .



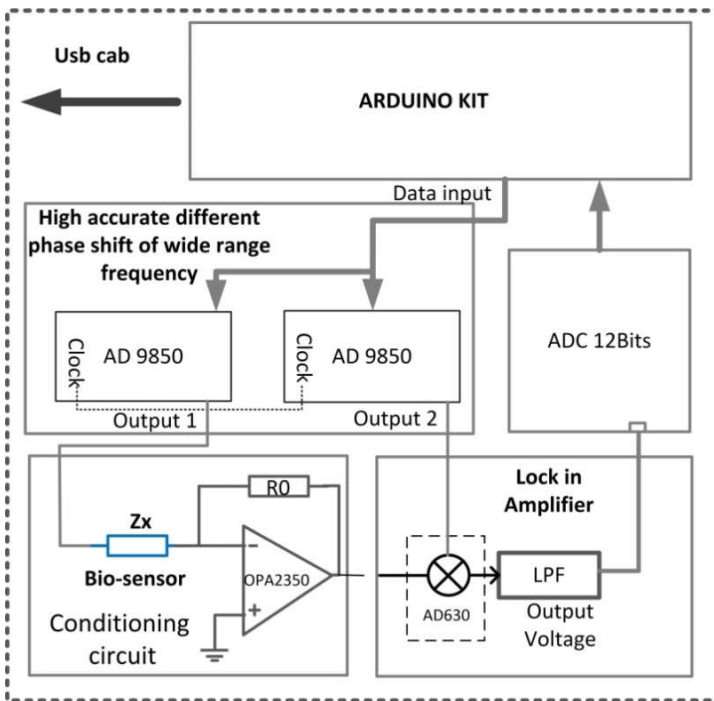
## 2.3 Chọn lọc và phát hiện protein sử dụng cảm biến miễn dịch kiểu tụ phẳng tích hợp trong kênh vi lỏng.

### 2.3.1 Cảm biến miễn dịch kiểu tụ điện phẳng

### 2.3.2 Mô hình chung của một cảm biến miễn dịch kiểu tụ phẳng hai điện cực

#### A. Tụ bề mặt

#### B. Tính toán cho mô hình cảm biến tụ phẳng



**Hình 2.6:** Sơ đồ khối và hình ảnh thực tế của mạch đo phổ trở kháng dải tần từ 10 kHz đến 100 kHz.

### 2.3.3 Phương pháp đo phổ trở kháng (EIS)

### 2.3.4 Nghiên cứu phát triển mạch đo phân tích trở kháng

#### A. Thiết kế mạch đo

#### B. Khảo sát mạch đo

## 2.4 Chế tạo chip vi kênh tập trung và phát hiện protein

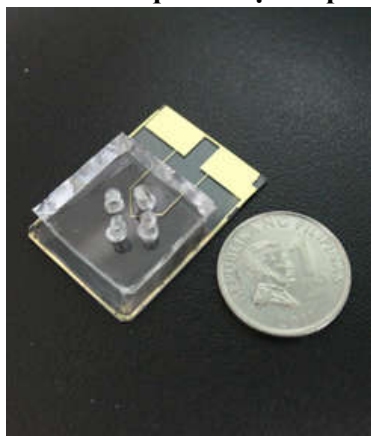
### 2.4.1 Chế tạo kênh vi lỏng

### 2.4.2 Chế tạo điện cực trên kính, gắn nano vàng trên phiến kính

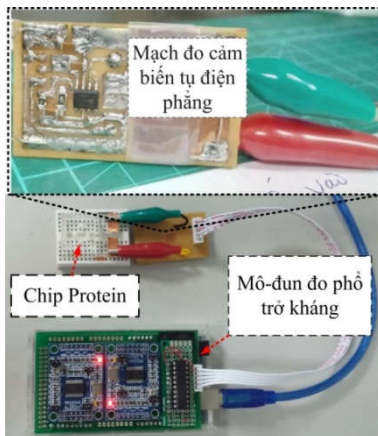
### 2.4.3 Gắn kênh vi lỏng lên chip

### 2.4.4 Quy trình gắn kháng thể

## 2.5 Kết quả chế tạo chip



a)



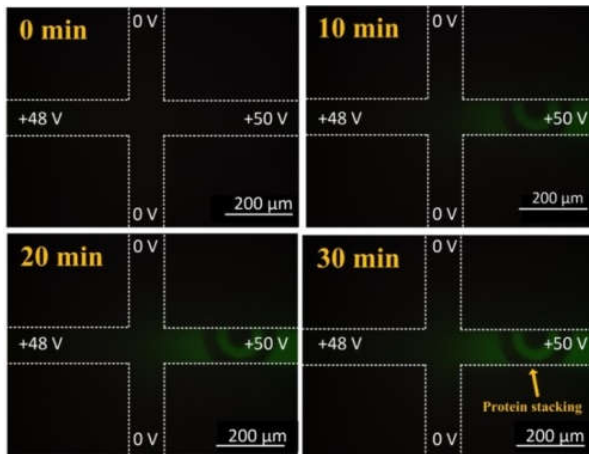
b)

Hình 2.14: a) Chip sau khi được chế tạo b) Mô-đun đo kết nối với chip sau khi được chế tạo.

## 2.6 kết luận

### Chương 3 KẾT QUẢ TẬP TRUNG VÀ PHÁT HIỆN PROTEIN TRÊN CHIP ĐIỆN CỰC TRÒN.

- 3.1 Cảm biến miễn dịch tụ phẳng điện cực tròn.
- 3.2 Thiết lập hệ đo
- 3.3 Kết quả tập trung protein với chip kênh vi lỏng có tích hợp cảm biến miễn dịch kiểu tụ phẳng cấu trúc điện cực tròn ở vùng tập trung.

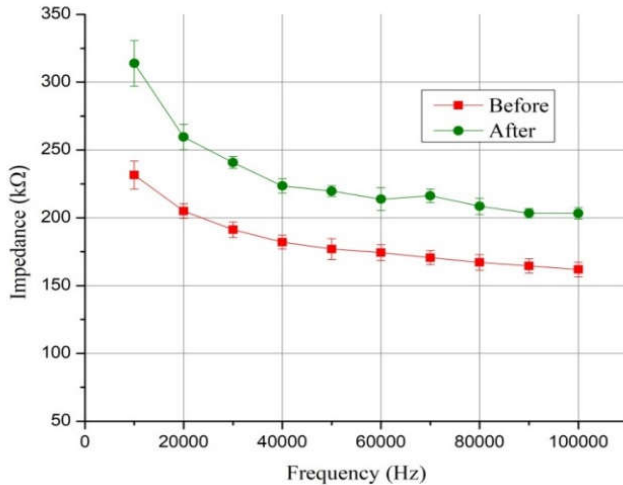


Hình 3.2: Quá trình tập trung protein của chip điện cực tròn thực hiện trong thời gian 30 phút.

- 3.4 Phát hiện protein trên chip vi kênh sau khi tập trung protein bằng phương pháp đo trở kháng sử dụng mạch thiết kế.

Hình 3.5 mô tả kết quả đo protein với chip tập trung cho thấy sự thay đổi trở kháng của protein sau khi được tập trung lại. Kết quả cho thấy ở 50 kHz thì trở kháng thay đổi tăng lên khoảng 50 kΩ so với trước khi tập trung và tổng trở đã thay đổi khoảng 30% lần so với trước khi tập trung. Sự tăng lên của trở kháng sau tiến hành rửa kênh

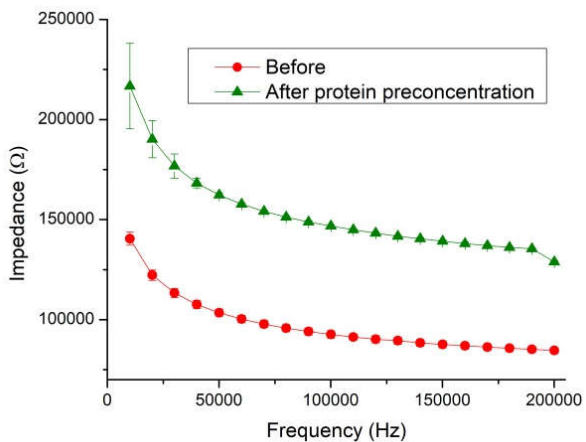
sau 30 phút đã phát hiện sự có mặt của protein bị bắt giữ trên điện cực vàng của cảm biến.



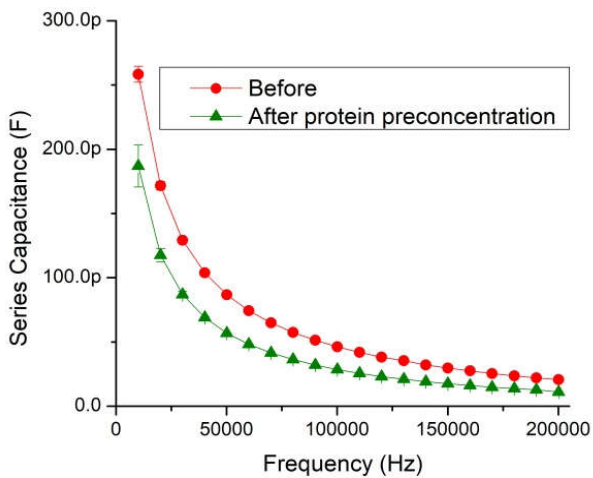
**Hình 3.3:** Trở kháng thay đổi trước khi và sau khi tiến hành tập trung protein tại vùng có cảm biến.

Bên cạnh phép đo trở kháng, tụ nối tiếp có thể được sử dụng để theo dõi sự thay đổi của cảm biến. **Hình 3.7 b** mô tả thay đổi của tụ điện nối tiếp trước và sau khi tập trung protein. Với mạch đo đã được cải tiến, với sai số lấy ADC ít hơn đã cho phép đo trở kháng chính xác hơn. Với phép đo tụ được đo thông qua thành phần ảo của trở kháng được mô tả ở công thức 2.4.

### 3.5 Kết luận



a)



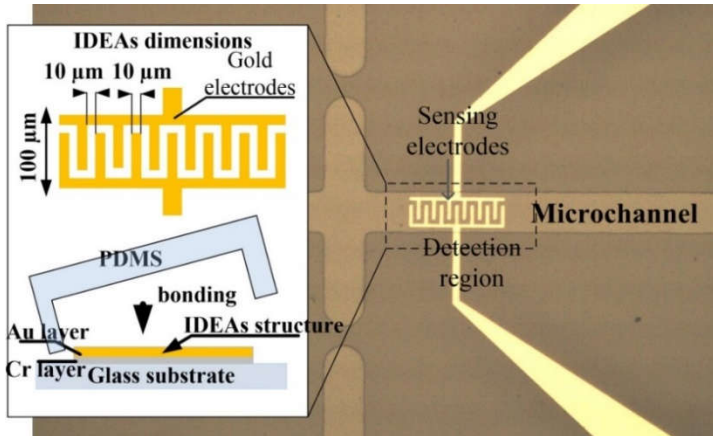
b)

**Hình 3.7: Kết quả thực nghiệm trên chip protein sau khi mạch đo được thiết kế lại, a) Tổng trở thay đổi trước và sau tập trung, b) Tụ nối tiếp thay đổi trước và sau tập trung.**

## Chương 4 SỬ DỤNG CẤU TRÚC CẢM BIẾN RĂNG LƯỢC TRONG PHÁT HIỆN CÁC LỚP SINH HÓA GẮN LÊN ĐIỆN CỰC VÀNG.

### 4.1 Kết quả nghiên cứu cảm biến tụ phẳng kiểu răng lược tích hợp trong chip vi kênh tập trung và phát hiện protein

**Hình 4.1** mô tả cấu trúc thiết kế của điện cực hình răng lược tích hợp trong kênh vi lỏng. Hai điện cực cấu trúc với 6 và 7 răng xen kẽ nhau. Mỗi răng cách nhau  $10\ \mu\text{m}$  và có độ rộng  $10\ \mu\text{m}$ . Việc điện cực xen kẽ nhau làm khoảng cách rút ngắn lại giữa hai điện cực. Toàn bộ hai điện cực nằm trong vùng protein sẽ được tập trung lại. Cấu trúc điện cực răng lược cho phép giảm khoảng cách giữa hai điện cực nghĩa là hai điện cực gần nhau hơn trên tổng thể diện tích của điện cực. Trở kháng của điện cực sẽ giảm khi các điện cực ở gần nhau, và làm tăng độ nhạy của cảm biến.



**Hình 4.1:** Thiết kế của điện cực cấu trúc răng lược tích hợp trong kênh vi lỏng.

#### 4.1.1 Trở kháng bề mặt ở tần số cao

#### 4.1.2 Mô hình đo tụ của cảm biến sinh học kiểu răng lược ở tần số cao

$$\frac{1}{C_s} = \frac{1}{C_f} + \frac{1}{C_{Comb}} \frac{R_s^2}{\frac{1}{(\omega \cdot C_{Comb})^2} + R_s^2} \quad (4.5)$$

Phương trình trên mô tả giá trị tụ tương đương nối tiếp của cảm biến trong mối liên hệ với tụ bề mặt  $C_f$ , tụ răng lược  $C_{comb}$ , trở dung dịch  $R_s$  và tần số góc  $\omega$ . Có thể thấy hàm của tụ tương đương nối tiếp tỉ lệ nghịch với bình phương tần số:  $C_s(\omega) \sim \frac{1}{\omega^2}$ . Tần số càng tăng thì giá trị tụ điện sẽ càng giảm. Ở tần số cao thì thành phần  $\frac{1}{(\omega \cdot C_{Comb})^2} + R_s^2$  sẽ xấp xỉ:  $\frac{1}{(\omega \cdot C_{Comb})^2} + R_s^2 \approx R_s^2$  khi  $\frac{1}{(\omega \cdot C_{Comb})^2} \ll R_s^2$ . Trong trường hợp này, phương trình 4.5 có thể viết lại như sau:

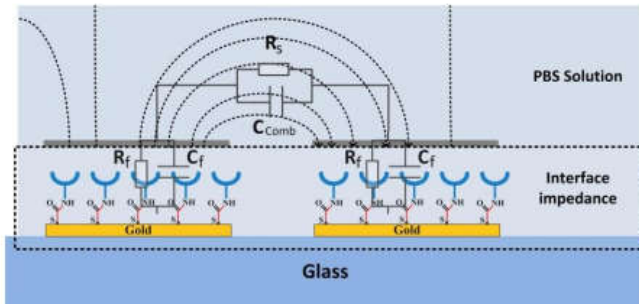
$$\frac{1}{C_s} \approx \frac{1}{C_f} + \frac{1}{C_{Comb}} \quad (4.6)$$

Phương trình 4.6 mô tả liên hệ giữa tụ tương đương nối tiếp với tụ bề mặt và tụ răng lược. Có thể thấy rằng ở tần số cao thì tụ tương đương nối tiếp  $C_s$  sẽ là thành phần cấu thành từ hai tụ bề mặt  $C_f$  và tụ răng lược  $C_{Comb}$  mắc nối tiếp với nhau. Việc đo tụ tương đương nối tiếp ở tần số cao có thể dễ dàng thực hiện bởi việc trích xuất từ phần ảo trở kháng của cảm biến.

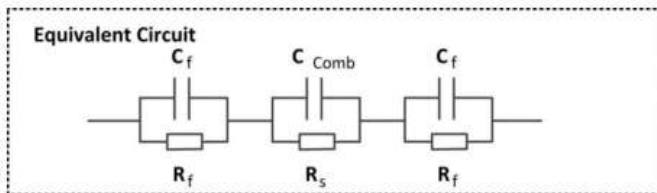
4.2 Kết quả khảo sát cảm biến cấu trúc răng lược với các nồng độ muối PBS khác nhau

4.3 Kết quả phát hiện và theo dõi các lớp sinh hóa được hình thành trên điện cực trong quá trình gắn kháng thể.

Hình 4.6 mô tả sự thay đổi của tụ bề mặt ( $C_{dl}$ ) tương ứng với các lớp sinh hóa có mặt trên bề mặt điện cực của cảm biến. Khi một lớp mới có mặt xếp chồng lên lớp cũ, điện môi của lớp mới sẽ tương ứng với một tụ điện được thêm vào nối tiếp với tụ bề mặt trước đó. Từ đó tụ bề mặt sẽ được xác định là các tụ nối tiếp của các lớp thêm vào và có thể được viết theo công thức sau:



a)



b)

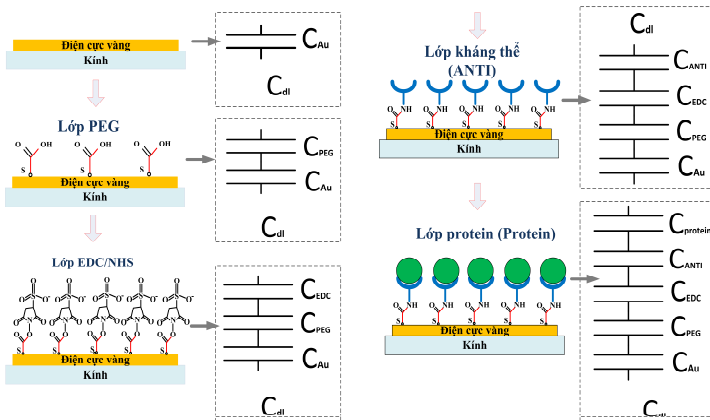
Hình 4.2: Mô hình cảm biến sinh học kiểu tụ răng lược, a) các thành phần điện của mô hình đo, b) sơ đồ tương đương của mô hình đo.



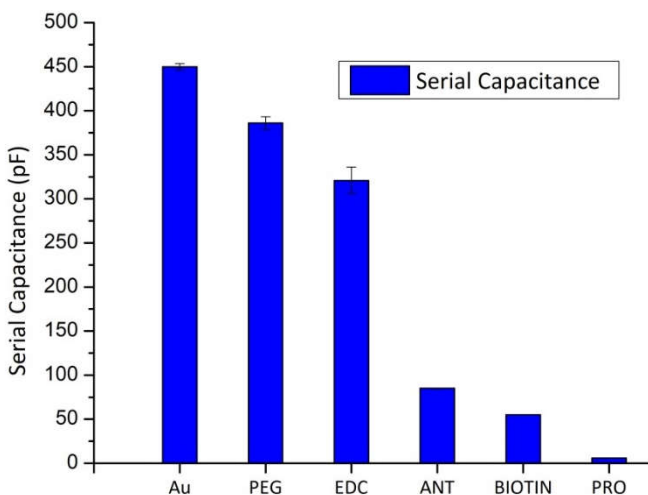
$$\frac{1}{C_{dl}} = \sum_{i=1}^n \frac{1}{C_i} \quad (4.7)$$

Trong đó,  $n$  là số lớp có mặt trên bề mặt. Giá trị tụ  $C_i$  tương ứng với tụ của từng lớp điện môi của các lớp lần lượt là  $C_{Au}$ ,  $C_{PEG}$ ,  $C_{NHS}$ ,  $C_{ANTI}$ ,  $C_{Biotin}$  và  $C_{Protein}$ . Có thể thấy rằng càng nhiều lớp sinh hóa trên bề mặt điện cực thì giá trị tụ bề mặt ( $C_{dl}$ ) càng giảm đi.

Phép đo tụ  $C_s$  cho thấy sự giảm đồng đều hơn giữa các lớp ở tần số cao (Hình 4.9 b). Việc áp dụng phép đo tụ thay cho phép đo trở kháng nhằm phát hiện sự có mặt của các lớp gắn lên trên điện cực vàng cho thấy sự ưu việt hơn đáng kể. Cụ thể là với hai lớp gắn đầu tiên, sự thay đổi của trở kháng ở tần số 1 MHz chỉ xấp xỉ 15 % và chỉ tăng nhiều ở lớp NHS. Trong khi đó, giá trị tụ điện  $C_s$  cho thấy sự giảm với khoảng giảm lên đến 40 % sau khi gắn lớp NHS.



**Hình 4.6:** Các lớp sinh hóa có mặt trên bề mặt điện cực tương đương với các lớp điện môi xếp chồng lên nhau tạo thành một mạch tụ nối tiếp.



**Hình 4.9:** Sự thay đổi trở kháng và tụ nối tiếp tương ứng với các lớp sinh hóa được gắn lên lần lượt với Au(chíp ban đầu), lớp PEG, EDC, Antibody (kháng thể), Biotin và protein, b) Tụ nối tiếp thay đổi ở 1MHz

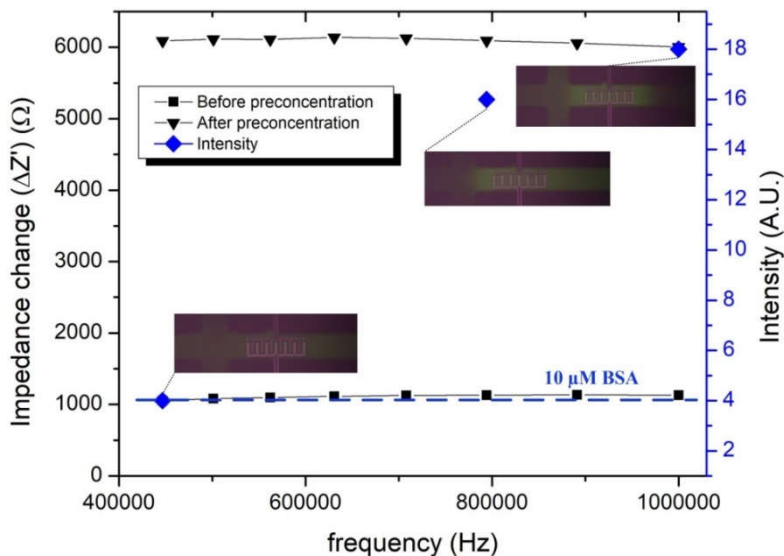
#### 4.4 Kết quả tập trung và phát hiện protein trên chip có cấu trúc điện cực hình răng lược.

Sau khi chế tạo, chip được gắn antibody lên trên điện cực vàng sau đó chip tập trung và phát hiện protein có cấu trúc răng lược được tiến hành tập trung và phát hiện protein. Trong cấu trúc chip này, dung dịch đệm là muối 10 mM PBS được sử dụng trong quá trình tập trung và phát hiện protein. Quá trình gắn kháng thể lên trên bề mặt vàng cũng được theo dõi bằng cách đo trở kháng bề mặt thay đổi tương ứng với từng lớp được gắn lên. Sau mỗi bước ủ hóa chất lên trên, máy phân tích trở kháng được sử dụng để đo sự thay đổi của trở kháng và tụ điện.

**Hình 4.10** mô tả quá trình tập trung protein ở chip điện cực răng lược tương ứng với sự thay đổi trở kháng thực của cảm biến. Cường độ huỳnh quang tăng từ 4 A.U. khi 10  $\mu$ M FITC-BSA được đưa vào trong kênh lên 18 A.U. sau khi protein được tập trung lại. Tương ứng với sự tăng cường độ huỳnh quang, trở kháng phần thực tăng tương ứng lần lượt là 1 k $\Omega$  và 6 k $\Omega$ .

Sau khi protein được tiến hành tập trung và sau đó tiến hành ủ trong 30 phút, kênh được tiến hành rửa 3 lần. Sau khi rửa kênh, phép đo trở kháng được thực hiện để phát hiện protein bị bắt giữ trên điện cực. Sau khi protein được tập trung và bắt giữ trở kháng của cảm biến ở tần số 1 MHz tăng lên đáng kể từ khoảng 8 k $\Omega$  tăng lên đến khoảng 30 k $\Omega$ . Tụ điện tương đương nối tiếp cũng cho thấy sự giảm từ hơn 50 pF xuống 5 pF sau khi protein bị bắt giữ. So với cấu trúc điện cực tròn, điện cực răng lược cho thấy độ nhạy cao hơn. Cụ thể là ở điện cực tròn trở kháng tăng 30% lần trước và sau khi tập trung 10  $\mu$ M BSA còn ở điện cực răng lược trở kháng tăng khoảng 4 lần sau khi protein được tập trung lại.

Bằng các sử dụng phương pháp đo tụ điện ở tần số cao áp dụng cho cấu trúc hình răng lược, quá trình theo dõi các lớp sinh hóa có mặt trên điện cực đã được nghiên cứu và hiện thực. Các phép đo đã cho thấy sự thay đổi giảm tương ứng với mỗi lớp sinh hóa có mặt trên cảm biến.



**Hình 4.10: Trở kháng và cường độ huỳnh quang thay đổi trong quá trình tập trung protein ở điện cực rắn lọc.**

## 4.5 Kết luận

### KẾT LUẬN

Luận án này đã tiến hành nghiên cứu và chế tạo thành công chip vi kênh có chức năng tập trung, chọn lọc và phát hiện protein. Mở ra một hướng nghiên cứu triển vọng trong việc phát triển chip phát hiện protein với nhiều ưu điểm.

Luận án này cũng đề xuất phương pháp đo điện dung của cảm biến ở tần số cao để theo dõi các bước gắn kháng thể lên cảm biến. Quá trình theo dõi để phát hiện các lớp sinh hóa có mặt trên bề mặt của cảm biến có thể được thực hiện nhờ phương pháp đo và phân tích trở kháng và điện dung của cảm biến.

Mạch đo và phân tích trở kháng ở dải tần số từ 10 kHz đến 200 kHz cũng đã được phát triển và chế tạo nhằm đáp ứng cho việc đo và phân tích trở kháng trên cấu trúc điện cực tròn. Việc phát hiện protein đã được thực hiện trên mạch đo đã được chế tạo nhằm hướng tới phát triển một thiết bị xét nghiệm nhỏ gọn, giá thành rẻ và có thể tích hợp được với các thiết bị hiển thị như máy tính hay smartphone để phát triển các ứng dụng theo dõi sức khỏe tại chỗ hay định kỳ cũng như các đơn vị y tế nhỏ không đủ trang bị các thiết bị đắt tiền.

### **Hướng nghiên cứu tiếp theo**

Dựa trên kết quả triển vọng đã đạt được, chip protein hiện vẫn đang được nghiên cứu phát triển hướng tới mục tiêu phát hiện một số loại bệnh cụ thể khác nhau. Các cấu trúc vi kênh được chèn các hạt nano vàng cũng là một đối tượng cần được nghiên cứu và cải tiến nhằm hướng tới một con chip được chế tạo đơn giản dễ dàng hơn. Cũng như chiều cao của kênh chỉ dưới 2  $\mu\text{m}$  cũng gây khó khăn cho việc gắn kênh và quá trình vận hành xét nghiệm. Chip protein đã được nhóm nghiên cứu ở trên đang tiếp tục có những nghiên cứu cải tiến nhằm hoàn thiện khả năng tập trung và bắt giữ cho một hoặc một số loại protein cụ thể. Chip protein với hệ mạch điện tích hợp, sử dụng nhiều lần chỉ bằng cách thay chip có cùng cấu trúc vi kênh có thể đáp ứng được bài toán xét nghiệm tại chỗ với thiết bị nhỏ gọn, giá thành thấp.

## DANH MỤC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

### Bài báo đăng trên tạp chí khoa học

1. Tuan Vu Quoc, Meng-Syuan Wu, Tung Thanh Bui, Trinh Chu Duc, and Chun-Ping Jen, “A Compact Microfluidic Chip with Integrated Impedance Biosensor for Protein preconcentration and Detection”, *Biomicrofluidics* 11, 054113 (2017). (ISI)
2. Tuan Vu Quoc, Viet Nguyen Ngoc, Tung Thanh Bui, Chun-Ping Jen, and Trinh Chu Duc” High-Frequency Interdigitated Array Electrode-Based Capacitive Biosensor for Protein Detection” *Biochip journal*, 13, 403–415(2019).(ISI)
3. Tuan Vu Quoc, Viet Nguyen Ngoc, Bao-Anh Hoang, Chun-Ping Jen, Trinh Chu Duc, Tung Thanh Bui, "Development of A Compact Electrical Impedance Measurement Circuit for Protein Detection Two-Electrode Impedance Micro-Sensor", *IETE Journal of Research*, (Hiện đang được yêu cầu chỉnh sửa nhỏ và phù hợp để đăng).(ISI)

### Hội nghị

4. Tuan Vu Quoc, Meng-Syuan Wu, Tung Thanh Bui, Trinh Chu Duc, and Chun-Ping Jen, “A compact exclusion-enrichment microfluidic chip with integrated impedance biosensor for low concentration protein detection”, *TRANSDUCERS Conference* 2017.
5. Vu Quoc Tuan, Ngoc-Viet Nguyen, Meng-Syuan Wu, Chun-Ping Jen, Bui Thanh Tung, Chu Duc Trinh “Development of an Impedance Spectroscopy Measurement Circuit Board for Protein Detection” *ICCE conference* 2018, pp184-188.
6. Tuan Vu Quoc, Tung Thanh Bui and Trinh Chu Duc “A Study on Electrical Parameters Of Interdigitated Array Electrodes (Ideas) Sensor For Concentration Measurement Of Phosphate-Buffered Saline”, *IWNA 2019 Conference*, p315-318.