

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC CÔNG NGHỆ



Trần Như Chí

NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN HỆ THỐNG PHÁT HIỆN  
PROTEINS CHO CÁC ỨNG DỤNG CHẨN ĐOÁN TẠI CHỖ  
(POINT-OF-CARE) TRONG XÉT NGHIỆM Y SINH

Ngành đào tạo: Kỹ thuật điện tử

Mã số: 9510302.01

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KỸ THUẬT ĐIỆN TỬ

Hà Nội, năm 2025

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

Phản biện: 1. PGS.TS. Vũ Duy Hải

Phản biện: 2. PGS.TS. Mai Hồng Hạnh

Phản biện: 3. PGS.TS. Trương Thị Ngọc Liên

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

vào hồi ..... giờ .....ngày.....tháng.....năm.....

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

# MỞ ĐẦU

## Lý do lựa chọn đề tài

Protein, được cấu tạo từ các chuỗi axit amin liên kết với nhau bằng liên kết peptide, đóng vai trò quan trọng trong cơ thể con người. Ngoài việc là thành phần cấu trúc của tế bào, chúng còn tham gia hầu hết các quá trình sinh học, từ xúc tác các phản ứng chuyển hóa đến điều hòa hệ miễn dịch. Chẳng hạn, protein giúp hình thành huyết thanh miễn dịch (kháng thể), bảo vệ cơ thể chống lại nhiễm trùng và tác nhân gây bệnh. Do những chức năng quan trọng này, việc xét nghiệm protein đã trở thành công cụ thiết yếu trong chẩn đoán và điều trị nhiều loại bệnh, đặc biệt là ung thư.

Hiện nay, một số kỹ thuật dựa trên xét nghiệm miễn dịch, chẳng hạn như hóa mô miễn dịch (IHC), xét nghiệm miễn dịch hấp thụ liên kết với enzyme (ELISA) và đếm dòng chảy (flow cytometry), được sử dụng để phát hiện và định lượng protein trong lâm sàng. Những phương pháp này, dựa vào các phép đo quang, cung cấp độ chính xác và đặc hiệu cao, đồng thời được áp dụng rộng rãi trong lâm sàng và các phòng nghiên cứu. Tuy nhiên, các kỹ thuật truyền thống này đang đối mặt với những thách thức như giới hạn độ nhạy phát hiện, thời gian xử lý kéo dài và yêu cầu người vận hành có kỹ năng cao, điều này làm hạn chế tính khả thi của chúng trong các ứng dụng xét nghiệm tại chỗ (POCT). Do đó, các nhà nghiên cứu đang chuyển hướng tập trung vào việc phát triển các giải pháp tự động, linh hoạt hơn.

Các công nghệ vi lưu và cảm biến sinh học đang mang lại những giải pháp tiềm năng cho những thách thức này, với nhiều ưu điểm như độ nhạy, thể tích mẫu nhỏ và quy trình làm việc tối ưu. Đặc biệt, các kênh vi lưu cho phép xử lý mẫu một cách chính xác và có thể phân tách, tập trung, cũng như khả năng phân tích các chỉ dấu sinh học trong lượng mẫu nhỏ, tạo nền tảng lý tưởng cho các hệ thống xét nghiệm tại chỗ. Bằng cách tích hợp cảm biến sinh học với các nền tảng vi lưu, các hệ

thống này có thể thay thế hiệu quả các kỹ thuật xét nghiệm truyền thống vốn chỉ áp dụng trong phòng thí nghiệm.

Trong nghiên cứu này, một hệ thống POCT tự động kết hợp cảm biến sinh học với chip vi lưu đã được phát triển để phát hiện, định lượng nồng độ protein trong dung dịch và cung cấp những thông tin chẩn đoán sơ bộ. Hệ thống này hạn chế tối thiểu các thao tác của người dùng và có khả năng cung cấp kết quả chẩn đoán nhanh chóng, đáng tin cậy và dễ tiếp cận, đánh dấu một bước tiến quan trọng trong việc phát hiện sớm và theo dõi các bệnh lý.

### **Mục tiêu nghiên cứu của luận án:**

Luận án này tập trung vào việc phát triển một hệ thống tập trung làm giàu và phát hiện protein, được thiết kế để tích hợp với một nền tảng chip vi lưu nhằm thực hiện tập trung và phát hiện protein một cách hiệu quả với thể tích mẫu nhỏ và thời gian thực nghiệm ngắn. Mục tiêu nghiên cứu là khảo sát, thiết kế và tiến hành các thí nghiệm trên hệ thống đề xuất, sử dụng chip vi lưu dựa trên nguyên lý cảm biến miễn dịch điện hóa. Chip vi lưu phát hiện protein đích trong dung dịch bằng cách theo dõi sự thay đổi tín hiệu huỳnh quang và tín hiệu điện. Các tín hiệu đầu ra này được ghi nhận, xử lý và hiển thị, mang lại một phương pháp tiếp cận tối ưu cho việc phát hiện về định lượng nồng độ protein.

### **Ý nghĩa khoa học và thực tiễn:**

Đề tài mang tính liên ngành của nhiều lĩnh vực khác nhau, bao gồm điện tử, hệ thống điều khiển, vi lưu, vật lý, sinh học và vi chế tạo. Hệ thống được đề xuất nhằm phát hiện sự hiện diện của các protein đích và định lượng nồng độ của chúng trong dung dịch. Việc triển khai thành công hệ thống này sẽ cung cấp một giải pháp thay thế hiệu quả về chi phí so với các thiết bị thương mại trên thị trường, cho phép phát hiện protein nhanh chóng mà không cần các điều kiện, cơ sở hạ tầng phòng thí nghiệm phức tạp. Ngoài ra, hệ thống còn mang lại khả năng phát hiện và định lượng tại chỗ, với thời gian xử lý ngắn, yêu cầu thể tích mẫu nhỏ và quy trình vận hành đơn giản.

## **Phương pháp và phạm vi nghiên cứu:**

Để đạt được các mục tiêu cụ thể, luận văn này bao gồm một số phương pháp nghiên cứu chính: tìm hiểu và đọc các tài liệu liên quan, mô hình hóa hệ thống, phân tích cấu trúc, quy trình chế tạo và thực nghiệm, đo lường để đánh giá hiệu suất của hệ thống. Cụ thể, luận án tập trung vào thiết kế cấu trúc chip vi lưu tích hợp các bộ tập trung làm giàu và các điện cực cảm biến, cùng với việc mô hình hóa và phân tích hoạt động của hệ thống. Ngoài ra, nghiên cứu còn tập trung vào thiết kế mạch điều khiển, tập trung protein trong vi kênh, và các mạch xử lý tín hiệu để phát hiện chính xác sự hiện diện của protein trong vùng cảm biến.

### **Bố cục của luận án:**

Luận án bao gồm 5 chương chính.

Chương 1: Chương này trình bày tổng quan về protein và vai trò của protein trong cơ thể con người. Tiếp theo, các phương pháp miễn dịch phân tích protein được cung cấp. Cuối cùng, nguyên lý và các phương pháp tiên tập trung làm giàu protein, cũng như lý thuyết về hiện tượng phân cực ion trong các kênh nano được giới thiệu.

Chương 2: Chương này trình bày chi tiết quá trình phát triển một chip vi lưu để tập trung làm giàu protein sử dụng cấu trúc cực cửa kép và màng nano chọn lọc ion. Đầu tiên, một bộ tập trung protein được thiết kế và mô hình hóa để phân tích hoạt động của cấu trúc. Tiếp theo, quy trình chế tạo chip được mô tả, sử dụng các kỹ thuật quang khắc và lithography mềm. Cuối cùng, các thí nghiệm được tiến hành để khảo sát các chế độ hoạt động và hiệu suất của chip đề xuất.

Chương 3: Chương này mô tả quá trình phát triển các cảm biến miễn dịch thông qua quá trình chức năng hóa bề mặt điện cực, áp dụng cho cả điện cực vàng và điện cực carbon. Các phép đo huỳnh quang và phép đo điện được tiến hành để phát hiện protein bị bắt giữ trên bề mặt điện cực. Thêm vào đó, một sự so sánh hiệu suất giữa các cảm biến dựa trên cấu

hình hai điện cực và ba điện cực được trình bày, làm nổi bật những ưu điểm và hạn chế của mỗi cấu hình về độ nhạy và độ chính xác trong phát hiện.

Chương 4: Chương này trình bày sự phát triển của hệ thống điều khiển tập trung làm giàu protein và mạch đo điện hóa. Đầu tiên, thiết kế hệ thống và sơ đồ khối được giới thiệu để phân tích các thành phần chức năng và quy trình làm việc của hệ thống. Sau đó, các thuật toán nhúng và giao diện người dùng đồ họa (GUI) được mô tả, làm rõ vai trò của chúng trong việc vận hành hệ thống và tương tác với người dùng. Cuối cùng, các thử nghiệm thực nghiệm được tiến hành để đánh giá hiệu suất của hệ thống, xác nhận tính hiệu quả của nó trong việc điều khiển tập trung protein và đo điện hóa.

Chương 5: Chương này trình bày sự phát triển của chip vi lưu tích hợp tập trung và phát hiện protein. Đầu tiên, thiết kế chip được giới thiệu, cung cấp tổng quan về hoạt động và bố trí chức năng của chip. Tiếp theo, các quy trình chế tạo cấu trúc điện cực và vi kênh được trình bày. Cuối cùng, một loạt các thí nghiệm được tiến hành để đánh giá và xác nhận hiệu suất của chip, đánh giá hiệu quả của chip trong việc tập trung và phát hiện protein.

Cuối cùng, nghiên cứu sinh kết luận nghiên cứu và đề xuất các công việc và phương hướng cho các nghiên cứu trong tương lai.

## **Chương 1. Tổng quan**

### **1.1. Giới thiệu về protein và vai trò của protein trong cơ thể**

Protein, hay còn gọi là polypeptide, là một phân tử sinh học quan trọng được cấu thành từ nhiều axit amin liên kết với nhau bằng các liên kết peptide cộng hóa trị. Protein đóng vai trò quan trọng trong các quá trình tế bào, bao gồm tham gia vào các phản ứng chuyển hóa, sao chép DNA, phản ứng với các kích thích, và vận chuyển các phân tử từ vị trí này sang vị trí khác. Protein đóng vai trò không thể thiếu trong việc duy trì sự sống và các chức năng cơ thể con người, ảnh hưởng trực tiếp đến

nhiều khía cạnh của sinh lý học bình thường. Chiếm tới 50% tổng khối lượng khô của tế bào, protein không chỉ là các thành phần cấu trúc quan trọng mà còn tham gia tích cực vào việc duy trì, sửa chữa và phát triển cơ thể. Trong y học và nghiên cứu sinh học, protein được coi là các dấu ấn sinh học quan trọng, hỗ trợ trong việc nhận diện và chẩn đoán các bệnh lý cũng như theo dõi sự tiến triển của chúng.

### **1.2. Các phương pháp xét nghiệm miễn dịch protein**

Xét nghiệm protein chủ yếu dựa vào các xét nghiệm miễn dịch với nhiều kỹ thuật khác nhau, bao gồm:

- Hóa mô miễn dịch (IHC)
- Xét nghiệm miễn dịch hấp thụ liên kết với enzyme (ELISA)
- Kỹ thuật đếm dòng chảy (Flow cytometry)
- Vi mảng protein
- Hệ thống Lab-on-a-chip

### **1.3. Tpp trung protein và các phương pháp tập trung protein**

Mặc dù phản ứng chuỗi polymerase (PCR) là một kỹ thuật mạnh mẽ và được sử dụng rộng rãi để khuếch đại theo cấp số nhân các chuỗi DNA hoặc RNA cụ thể, nhưng nó không thể áp dụng trực tiếp để khuếch đại protein. Để giải quyết thách thức này, nhiều phương pháp đã được phát triển để làm giàu hoặc khuếch đại các protein cụ thể từ các mẫu sinh học phức tạp, bao gồm:

- Bẫy điện động học (electrokinetic trapping)
- Khuếch đại trường xếp chồng (Field amplification stacking - FAS)
- Điện di sắc ký (isotachopheresis)
- Điện di (isoelectric focusing)
- Quét điện động Micellar (micellar electrokinetic sweeping)
- Tập trung cột sắc ký (chromatographic preconcentration)

Những kỹ thuật này nhằm kiểm soát và tăng nồng độ protein tại khu vực gần bề mặt cảm biến sinh học, giúp phát hiện được cả những dấu ấn sinh học có nồng độ thấp.

#### 1.4. Tương tác tĩnh điện và phân cực nồng độ ion trong các kênh vi lưu

Lớp điện kép (EDL) ngày càng đóng vai trò quan trọng trong việc xác định các đặc tính vật lý như chọn lọc ion, độ nhớt và khả năng di chuyển proton trong các kênh vi lưu. Khi một bề mặt rắn tiếp xúc với dung dịch điện giải, nó sẽ mang một điện tích bề mặt, thu hút một lớp các ion mang điện tích đối (counterions) tại bề mặt. Lớp ion này được gọi là lớp Stern, gắn chặt với bề mặt. Do tỷ lệ điện tích bề mặt/khối lượng cao, các kênh nano có chiều dài Debye đủ lớn có thể khiến EDL chiếm phần lớn thể tích của kênh. Kết quả là, các kênh nano có thể ưu tiên cho các ion đối di chuyển (ngược lại với điện tích bề mặt), dẫn đến những hiệu ứng vật lý đặc biệt như phân cực nồng độ ion (ICP).

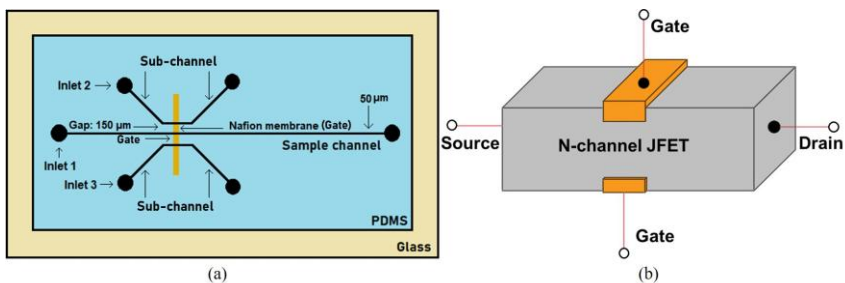
### Chương 2. Phát triển chip vi lưu tập trung protein sử dụng cấu trúc cực cửa kép và màng nano chọn lọc ion

#### 2.1. Vật liệu và thiết bị

Một số vật liệu và thiết bị đã được sử dụng để chế tạo các chip vi lỏng và khảo sát các chế độ hoạt động của bộ tập trung protein.

#### 2.2. Thiết kế chip và nguyên lý hoạt động

Cấu trúc chip tập trung đề xuất được thiết kế với cấu hình cực cửa kép, bao gồm ba vi kênh: một kênh chính ở giữa và hai kênh phụ đối xứng qua kênh chính (Hình 2.1 (a)).

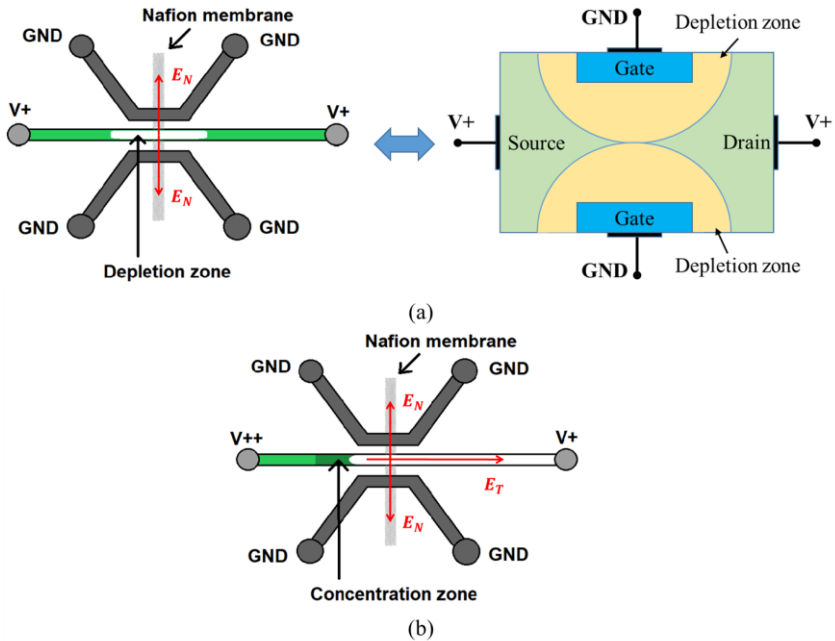


Hình 2.1. (a) Thiết kế chip tập trung protein với cấu trúc cực cửa kép; (b) Sơ đồ tương đương của cấu trúc như một linh kiện transistor JFET kênh N



Các kênh phụ được kết nối về điện với kênh chính thông qua một màng chọn lọc ion được tạo thành từ dung dịch Nafion. Thuật ngữ "cửa" đại diện cho màng nano (nanojunction) giữa kênh chính và kênh phụ. Cấu trúc đề xuất có thể được mô phỏng như một transistor hiệu ứng điện trường (JFET) kênh N, một linh kiện bán dẫn phổ biến trong các mạch điện tử, như được thể hiện trong Hình 2.1 (b).

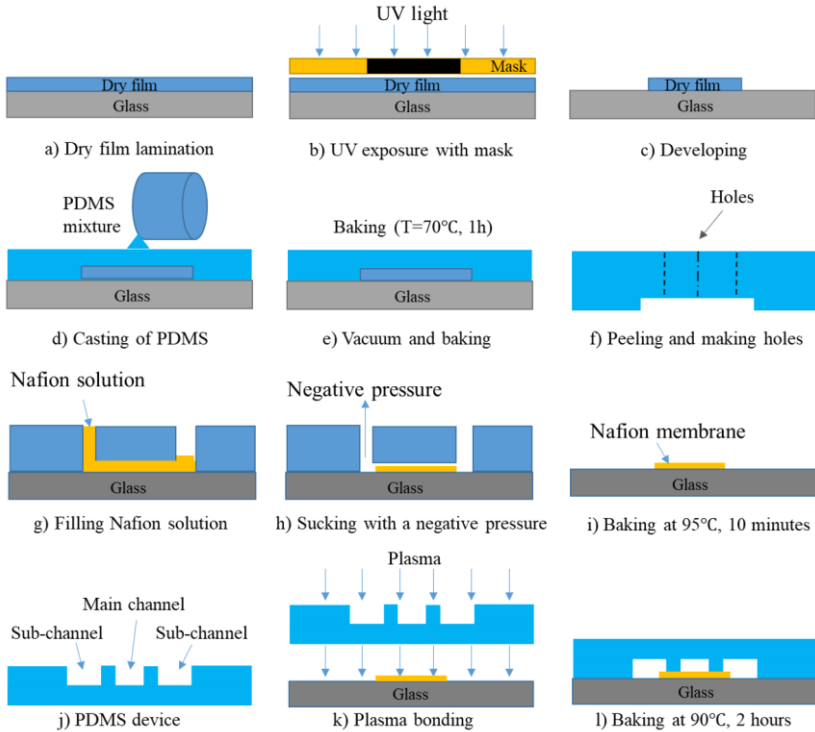
Quy trình tập trung bao gồm hai chế độ: chế độ làm nghèo và chế độ làm giàu, như được minh họa trong Hình 2.2 (a) và (b).



Hình 2.2. Nguyên lý hoạt động của bộ tập trung bao gồm hai chế độ: làm nghèo (a) và làm giàu (b)

### 2.3. Chế tạo chip

Quy trình chế tạo chip được đề xuất bao gồm 12 bước, kết hợp kỹ thuật quang khắc mềm và kỹ thuật tạo mẫu dòng chảy vi mô (micro-flow patterning), như được minh họa trong Hình 2.3.



Hình 2.3. Quy trình chế tạo cấu trúc được đề xuất sử dụng các kỹ thuật quang khắc mềm và tạo mẫu dòng chảy vi mô

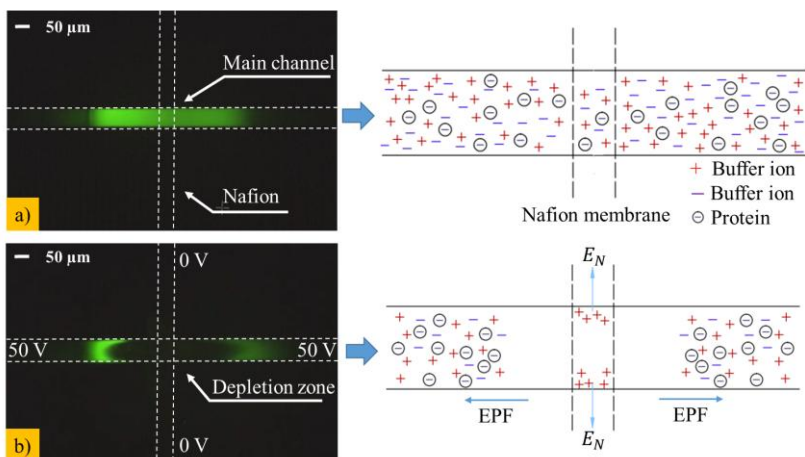
## 2.4. Thiết lập thí nghiệm

Hệ thống kính hiển vi soi ngược tích hợp với camera tốc độ cao được sử dụng để quan sát và ghi lại hình ảnh huỳnh quang của kênh vi lưu. Một máy tính cá nhân kết nối với phần mềm PCC của Công ty Vision Research được kết nối với camera tốc độ cao để thu thập và phân tích dữ liệu.

## 2.5. Kết quả và thảo luận

Hình 2.5 cho thấy kết quả của chế độ làm nghèo. Tín hiệu huỳnh quang tại vùng giữa của kênh chính, nơi màng Nafion được hình thành để kết nối điện giữa các kênh phụ và kênh chính đã giảm đáng kể, được gọi là vùng nghèo. Điều này có thể được giải thích do các phân tử

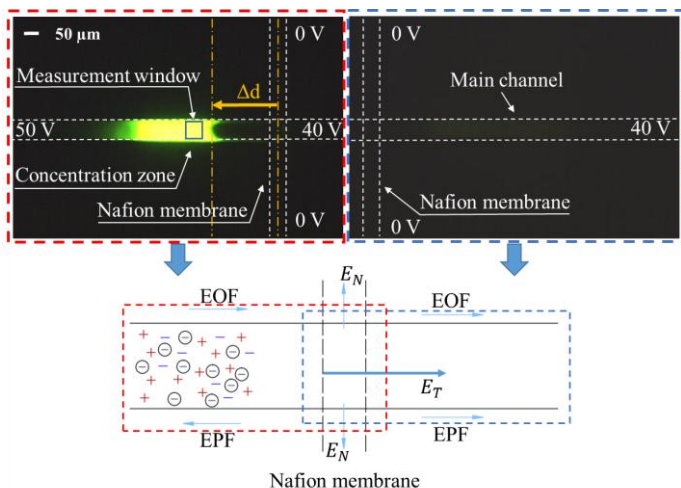
protein BSA và các ion âm bị đẩy ra khỏi vùng nghèo và di chuyển đến hai đầu của kênh chính dưới tác động của lực điện di (EPF).



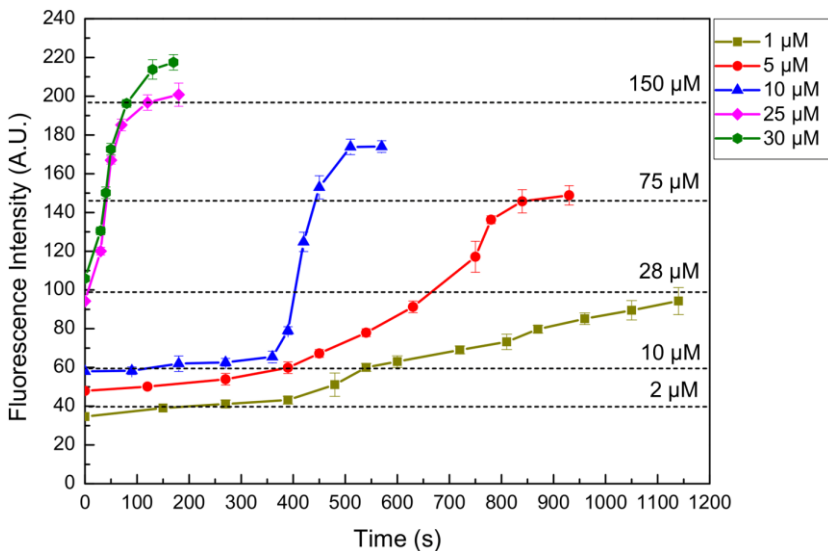
Hình 2.5. Kết quả nồng độ tại vùng nghèo. (a) Trước khi cấp điện áp; (b) Sau 20 giây cấp điện áp 50 V tại hai đầu của kênh chính và 0 V tại hai đầu của mỗi kênh phụ.

Trong chế độ làm giàu, vùng điện áp cao hơn của kênh chính ở phía trước vùng nghèo thể hiện cường độ tín hiệu huỳnh quang cao hơn. Ngược lại, vùng điện áp thấp hơn của kênh cho thấy tín hiệu huỳnh quang giảm, như được minh họa trong Hình 2.6.

Trong nghiên cứu này, năm nồng độ protein BSA đã được sử dụng để đánh giá định lượng hệ số và tốc độ tập trung của chip đề xuất. Cường độ huỳnh quang được biểu diễn bằng giá trị trung bình của một cửa sổ đo hình vuông nằm trong vùng tập trung protein, như được minh họa trong Hình 2.6. Kết quả thực nghiệm chỉ ra rằng tốc độ tập trung protein ở nhóm nồng độ ban đầu cao, bao gồm 25  $\mu\text{M}$  và 30  $\mu\text{M}$ , nhanh hơn nhiều so với các nồng độ ban đầu thấp hơn (Hình 2.7). Đối với nhóm nồng độ thấp, thời gian tập trung protein giảm đáng kể.

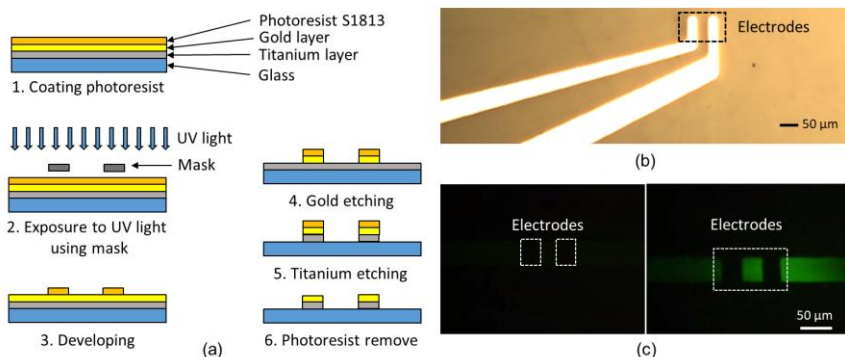


Hình 2.6. Kết quả tập trung protein, các protein được tích tụ trong vùng tập trung.



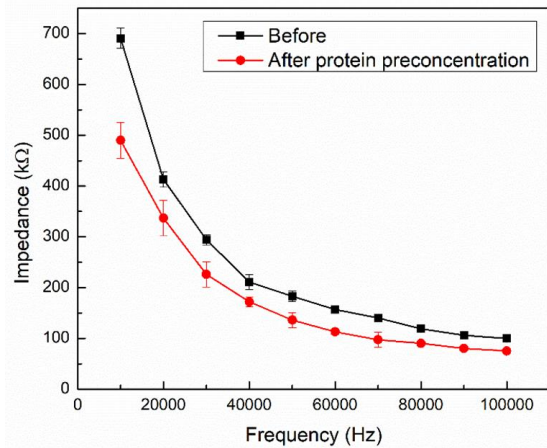
Hình 2.7. Nồng độ protein tăng dần theo thời gian trong vùng tập trung protein.

Hai vi điện cực vàng đã được tích hợp vào kênh chính để đo trở kháng của mẫu protein sau quá trình tập trung. Quy trình chế tạo điện cực được chia thành 6 bước, như được minh họa trong Hình 2.10 (a). Hình 2.10 (b) hiển thị hình ảnh thực tế của điện cực vàng quan sát dưới kính hiển vi. Điện trở giữa hai điện cực được đo trước và sau quá trình tập trung protein. Sau khi cung cấp điện áp vào hai đầu của các kênh vi lưu, các protein đã được điều khiển và tập trung tại khu vực điện cực cảm biến, như được minh họa trong Hình 2.10 (c). Bên cạnh đó, trở kháng đã giảm đáng kể sau khi tập trung protein vào khu vực điện cực.

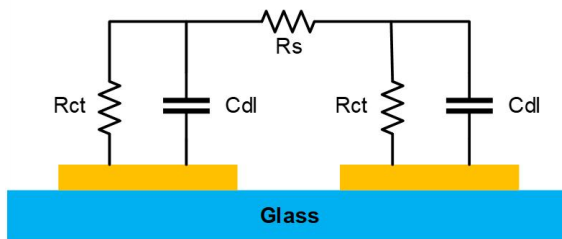


Hình 2.10. (a) Quy trình chế tạo điện cực vàng sử dụng kỹ thuật quang khắc; (b) Hình ảnh thực tế của điện cực dưới kính hiển vi; (c) Sự thay đổi tín hiệu huỳnh quang của khu vực điện cực trước và sau khi tập trung protein trong kênh chính

Bên cạnh đó, điện trở đã giảm đáng kể sau khi tập trung protein vào khu vực cảm biến, như được minh họa trong Hình 2.11 (a). Hai đường cong trở kháng tách biệt rõ ràng trong dải tần số từ 10 kHz đến 100 kHz. Ngoài ra, điện trở ở dải tần số cao là thấp hơn và ổn định hơn so với dải tần số thấp. Những thay đổi này của trở kháng có thể được giải thích bằng mô hình Randles đơn giản (Hình 2.11 (b)).



(a)



(b)

Hình 2.11. (a) Sự thay đổi điện trở giữa hai điện cực trước và sau khi tập trung protein; (b) Mô hình Randles đơn giản được sử dụng để giải thích sự thay đổi điện trở của vùng tập trung protein

### Chương 3. Chức năng hóa bề mặt điện cực và phát triển cảm biến miễn dịch phát hiện protein

#### 3.1. Vật liệu và thiết bị

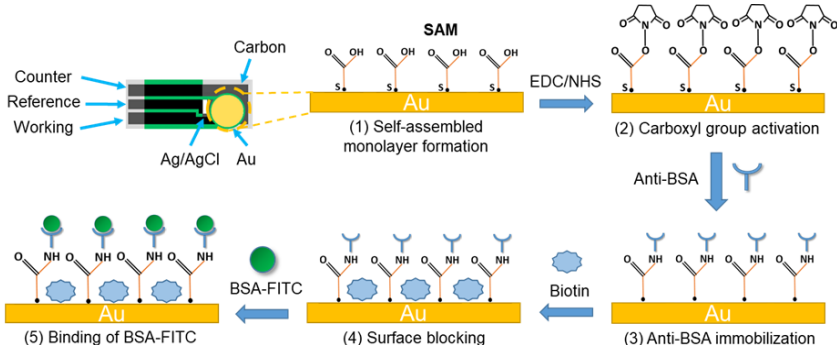
Hóa chất, điện cực và thiết bị đã được chuẩn bị để thực hiện các quy trình chức năng hóa bề mặt điện cực và phát triển cảm biến phát hiện protein.

#### 3.2. Cấu trúc của điện cực in thương mại (screen-printed electrode)

Có ba điện cực trong một điện cực vàng in được sử dụng trong các thí nghiệm, bao gồm điện cực làm việc, điện cực đối và điện cực tham chiếu

### 3.3. Quy trình chức năng hóa bề mặt điện cực vàng

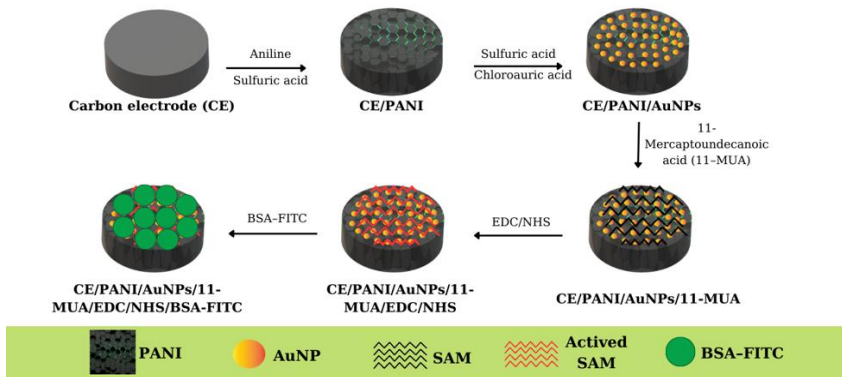
Quy trình chức năng hóa bề mặt điện cực vàng được chia thành năm bước chính, như được minh họa trong Hình 3.2.



Hình 3.2. Quy trình chức năng hóa bề mặt điện cực vàng để cố định anti-BSA và phát hiện BSA.

### 3.4. Quy trình chức năng hóa bề mặt điện cực carbon

Quy trình chức năng hóa bề mặt điện cực carbon được chia thành năm bước chính, như được minh họa trong Hình 3.3.



Hình 3.3. Chức năng hóa bề mặt điện cực carbon sử dụng aniline và hạt nano vàng

### **3.5. Kết quả và thảo luận đối với điện cực vàng**

Các kết quả thu được bao gồm:

- Kết quả của hiệu suất gắn kết đặc hiệu giữa các điện cực khác nhau và thiol khác nhau
- Kết quả khảo sát thời gian ủ 11-MUA
- Kết quả khảo sát nồng độ protein BSA khác nhau
- Kết quả khảo sát bề mặt điện cực sử dụng phép đo quang phổ Raman
- Kết quả khảo sát sử dụng phép đo trở kháng
- Kết quả so sánh hiệu suất giữa các cảm biến dựa trên cấu hình 2 điện cực và 3 điện cực

### **3.6. Kết quả và thảo luận đối với điện cực carbon**

Các kết quả thu được bao gồm:

- Quá trình polymer hóa aniline trên điện cực carbon
- Quá trình lắng đọng hạt nano vàng trên bề mặt điện cực
- Kết quả khảo sát hình thái bề mặt điện cực
- Khảo sát bề mặt điện cực sử dụng phép đo huỳnh quang
- Khảo sát bề mặt điện cực sử dụng phép đo điện thế quét vòng (CV)

## **Chương 4. Phát triển hệ thống điều khiển tập trung và mạch đo điện hóa**

### **4.1. Vật liệu và thiết bị**

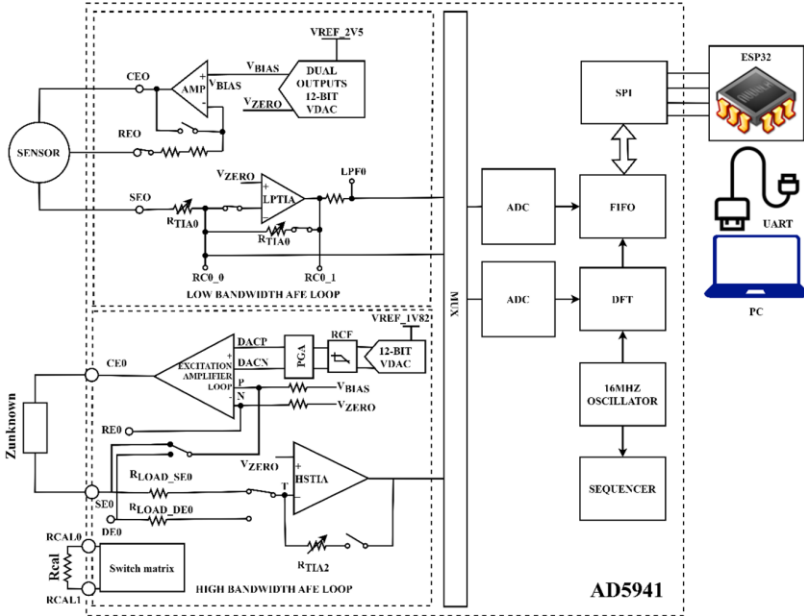
Các linh kiện và hóa chất đã được chuẩn bị để chế tạo và khảo sát hoạt động của hệ thống đề xuất.

### **4.2. Thiết kế và chế tạo mạch đo điện hóa và điện trở**

Hình 4.1 cho thấy sơ đồ khối của hệ thống đề xuất, bao gồm khối xử lý trung tâm, mạch đo, cảm biến và truyền thông. Trong khối xử lý trung tâm, mô-đun ESP32 Wi-Fi và Bluetooth được sử dụng để cấu hình các tham số và thanh ghi của mạch đo AD5941. Mạch hệ thống được thiết kế và chế tạo sử dụng kỹ thuật bảng mạch in nhiều lớp (PCB). Sau khi hàn,



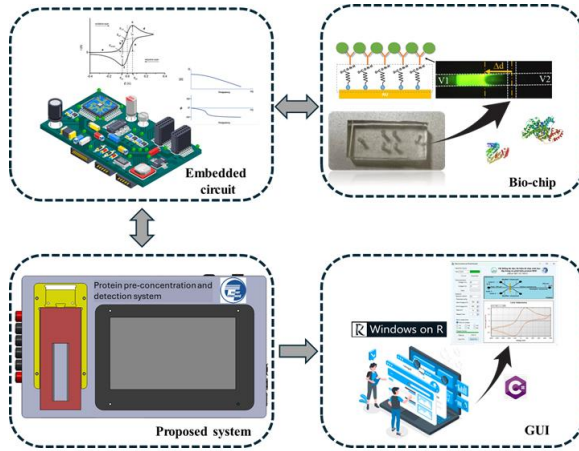
các mạch được bao bọc trong một hộp nhựa được chế tạo bằng công nghệ in 3D.



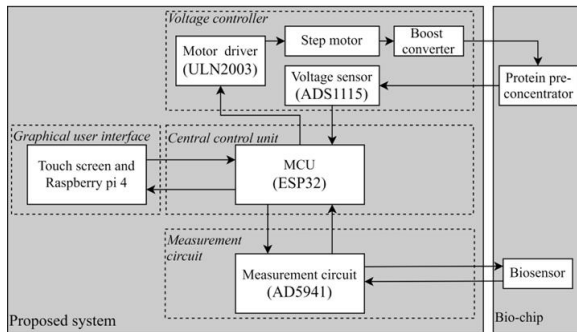
Hình 4.1. Sơ đồ khối của hệ thống được đề xuất với 4 khối chính, bao gồm khối xử lý, mạch đo, cảm biến và truyền thông.

### 4.3. Thiết kế và chế tạo hệ thống tích hợp tập trung và đo điện hóa

Hệ thống được đề xuất thực hiện hai nhiệm vụ chính, bao gồm tập trung protein ở nồng độ thấp và thực hiện phép đo điện hóa để phát hiện protein mục tiêu. Hình 4.3 hiển thị thiết kế tổng thể và sơ đồ khối của hệ thống được đề xuất. Hệ thống này được chia thành năm khối chính, bao gồm khối điều khiển trung tâm, mạch đo, bộ điều khiển điện áp, chip sinh học và giao diện người dùng đồ họa (GUI). Mô-đun điều khiển trung tâm sử dụng board phát triển ESP32 DevKit V1, chịu trách nhiệm tự động hóa quy trình xét nghiệm.



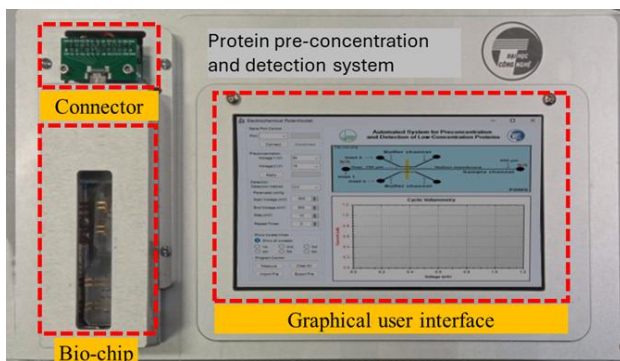
(a)



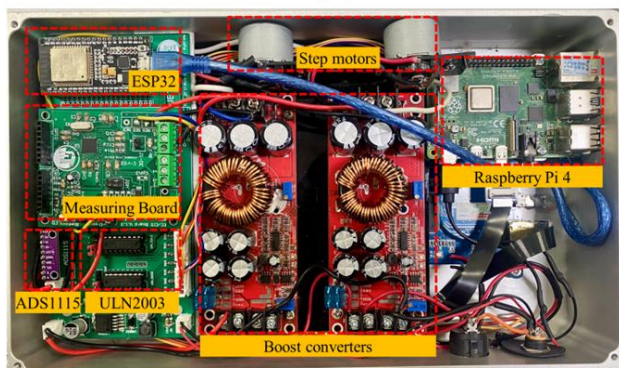
(b)

Hình 4.3. Thiết kế hệ thống; (a) Thiết kế tổng thể; (b) Sơ đồ khối của hệ thống được đề xuất

Hình 4.4 hiển thị hình ảnh thực tế của hệ thống đề xuất sau khi thiết kế và chế tạo. Bên ngoài của hệ thống bao gồm bio-chip, bộ kết nối và giao diện người dùng (Hình 4.4 (a)). Bên trong hệ thống, các thành phần bao gồm mạch đo tích hợp AD5941, cùng với bo mạch xử lý trung tâm hỗ trợ kết nối giữa các mô-đun khác nhau (Hình 4.4 (b)).



(a)



(b)

Hình 4.4. Hình ảnh thực tế của hệ thống được đề xuất sau khi thiết kế và chế tạo. (a) Bên ngoài hệ thống; (b) Bên trong hệ thống

#### 4.4. Thuật toán nhúng trên vi xử lý và giao diện đồ họa người dùng (GUI) cho mạch đo điện hóa và điện trở.

Có hai thuật toán, bao gồm:

- Thuật toán 1. Phần mềm để đo lường và thu thập dữ liệu
- Thuật toán 2. Phần mềm trên máy tính

#### 4.5. Giao diện đồ họa người dùng và phần mềm nhúng cho hệ thống tích hợp tập trung protein và đo điện hóa

Giao diện đồ họa người dùng được thiết kế và phát triển sử dụng

Visual Studio IDE, một môi trường phát triển phần mềm do Microsoft cung cấp, sử dụng ngôn ngữ lập trình C#. GUI bao gồm bảng điều khiển và khu vực vẽ đồ thị. Bảng điều khiển chứa ba nhóm chức năng điều khiển, bao gồm điều khiển cổng nối tiếp, nhóm tập trung và nhóm đo lường.

Có hai thuật toán, bao gồm:

- Thuật toán 3. Thực hiện chức năng điều khiển điện áp
- Thuật toán 4. Thực hiện chức năng đo điện hóa

#### **4.6. Thiết lập thí nghiệm**

Để nghiên cứu quá trình tập trung protein, chip tập trung protein được đặt dưới kính hiển vi và kết nối với hệ thống qua các dây nối. Các điện áp được cấu hình trên màn hình của thiết bị. Quá trình tập trung protein được quan sát trên màn hình máy tính kết nối với camera tốc độ cao của hệ thống kính hiển vi.

#### **4.7. Kết quả và thảo luận**

Kết quả thí nghiệm bao gồm:

- Khảo sát bộ điều khiển điện áp
- Khảo sát quá trình tập trung protein
- Khảo sát phép đo điện thế quét vòng
- Khảo sát phép đo phổ trở kháng

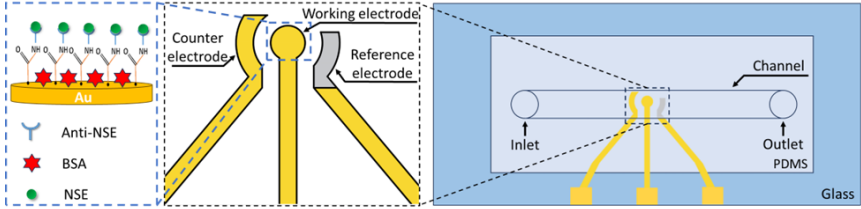
### **Chương 5. Phát triển chip vi lưu tích hợp tập trung và phát hiện protein**

#### **5.1. Vật liệu và thiết bị**

Các hóa chất và thiết bị được chuẩn bị để chế tạo chip vi lưu và nghiên cứu hoạt động của nó.

#### **5.2. Thiết kế chip vi lưu để phát hiện NSE**

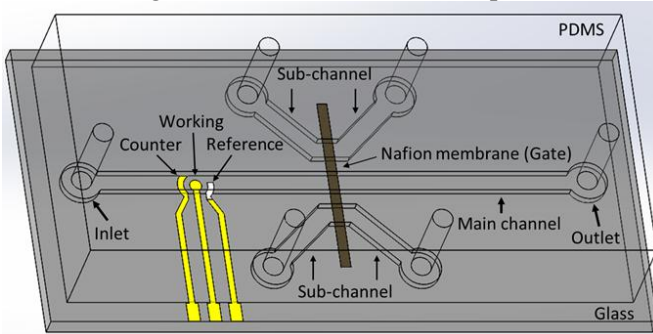
Cảm biến sinh học đề xuất bao gồm ba điện cực chính, bao gồm điện cực làm việc, điện cực đối và điện cực tham chiếu, như thể hiện trong Hình 5.1. Các điện cực làm việc và đối được chế tạo từ vật liệu vàng, trong khi điện cực tham chiếu được làm từ Ag/AgCl. Điện cực làm việc đóng vai trò quan trọng và là nơi xảy ra các phản ứng điện hóa.



Hình 5.1. Thiết kế chip vi lưu, bao gồm cảm biến điện hóa được tích hợp bên trong vi kênh.

### 5.3. Thiết kế chip vi lưu để tập trung và phát hiện BSA

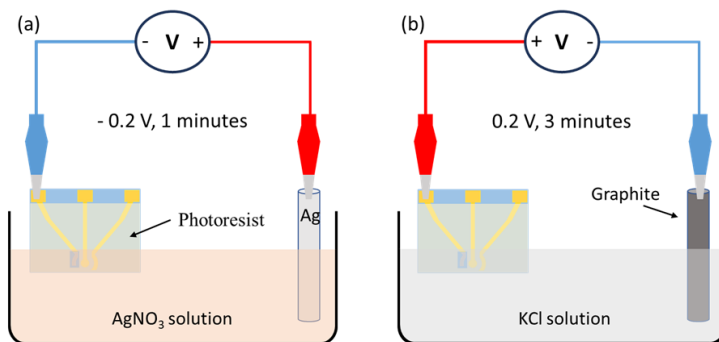
Thiết kế chip vi lưu được chia thành hai phần chính, bao gồm bộ tập trung protein và cảm biến sinh học điện hóa, như được minh họa trong Hình 5.2. Bộ tập trung protein có cấu hình cực cửa kép với một kênh chính ở giữa và hai kênh phụ đối xứng. Hai kênh phụ được kết nối với kênh chính thông qua màng Nafion. Cực cửa kép đại diện cho hai lớp màng Nafion kết nối giữa kênh chính và các kênh phụ.



Hình 5.2. Thiết kế của chip vi lưu đề xuất, bao gồm một bộ tập trung protein và một cảm biến sinh học.

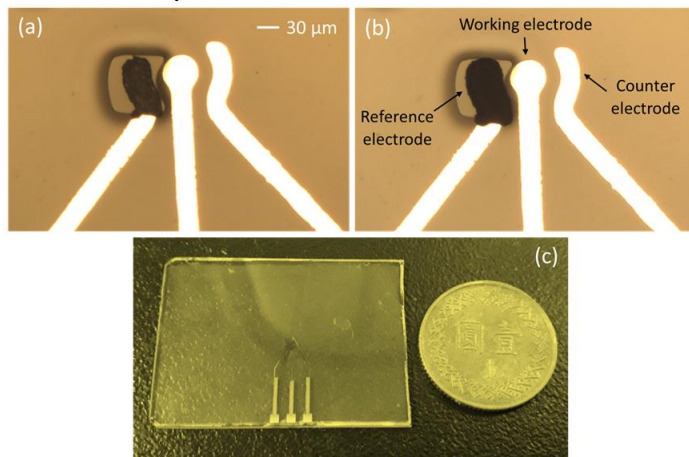
### 5.4. Quá trình chế tạo cảm biến sinh học điện hóa

Quy trình chế tạo cấu trúc điện cực bao gồm sáu bước chính: phủ lớp quang điện trở, chiếu tia UV sử dụng mặt nạ, hiện hình, ăn mòn vàng, ăn mòn titan và loại bỏ lớp quang điện trở.



Hình 5.4. Quy trình chế tạo điện cực tham chiếu: (a) mạ bạc; (b) phủ lớp bạc clorua.

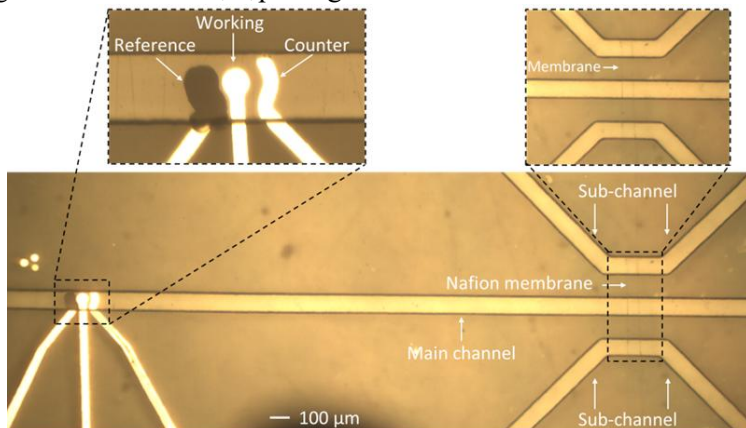
Sau khi chế tạo, các điện cực vàng được làm sạch bằng dung dịch IPA, nước DI, và sấy khô bằng khí nitơ. Tiếp theo, ba bước đầu tiên trong quy trình đã nêu được lặp lại với việc sử dụng một mặt nạ khác để chọn lọc chỉ để hở vùng điện cực tham chiếu, đồng thời phủ lớp photoresist lên các điện cực còn lại. Quy trình chế tạo điện cực tham chiếu bao gồm hai giai đoạn: mạ bạc và phủ lớp bạc clorua, như được minh họa trong Hình 5.4. Hình 5.5 cho thấy hình ảnh thực tế của các điện cực sau khi chế tạo.



Hình 5.5. Cấu trúc điện cực được chế tạo: (a) Sau khi mạ bạc; (b) Sau khi phủ bạc clorua; (c) Hình ảnh thực tế của các điện cực.

### 5.5. Quy trình chế tạo kênh vi lưu

Kênh vi lưu và chip vi lưu được chế tạo dựa trên các kỹ thuật quang khắc (photolithography) và khắc mềm (soft lithography). Hình 5.7 trình bày kết quả chế tạo của chip đề xuất, với điện cực điện hóa được đặt bên trong kênh chính của bộ tập trung.

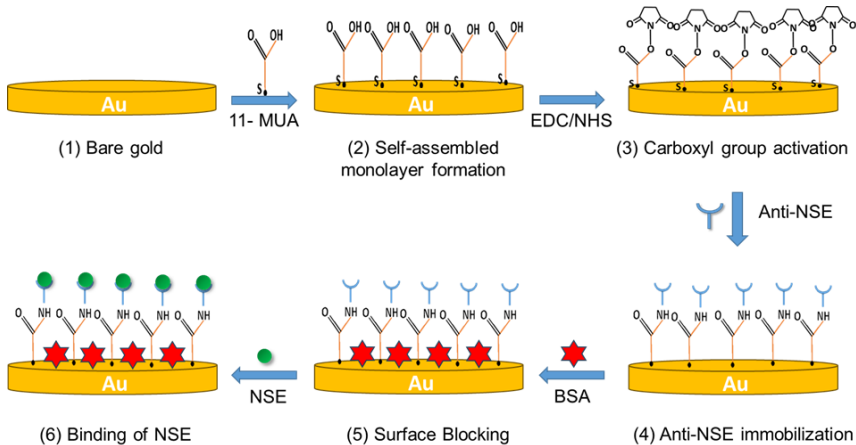


Hình 5.7. Chi vi lưu đề xuất để tập trung và phát hiện BSA sau khi được chế tạo

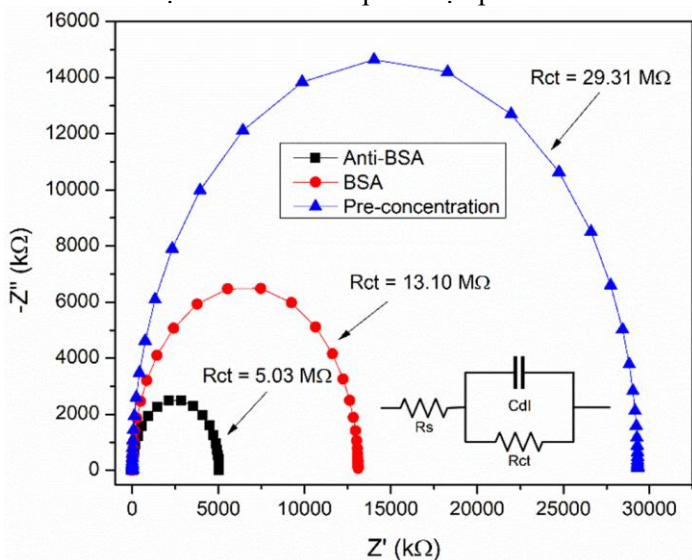
### 5.6. Quy trình chức năng hóa bề mặt điện cực vàng

Sau khi chế tạo chip vi lưu, bề mặt điện cực vàng được chức năng hóa theo quy trình được mô tả trong Hình 5.8. Quy trình này nhằm cố định kháng thể anti-NSE lên bề mặt điện cực và cho phép phát hiện NSE thông qua các tương tác liên kết đặc hiệu giữa kháng thể và kháng nguyên mục tiêu. Quy trình này được chia thành năm bước chính, bao gồm hình thành lớp đơn tự lắp ráp, hoạt hóa nhóm carboxyl, cố định anti-NSE, khóa bề mặt và bắt cặp NSE.

Đối với chip vi lưu tập trung và phát hiện protein BSA, quy trình chức năng hóa bề mặt điện cực vàng được lặp lại với anti-BSA. Biotin được sử dụng để khóa bề mặt điện cực và ngăn ngừa liên kết không đặc hiệu giữa kháng nguyên và bề mặt điện cực. Sau đó, quy trình tiền tập trung được áp dụng để đạt được nồng độ protein cục bộ cao tại bề mặt điện cực, qua đó tăng cường hiệu quả liên kết protein trên bề mặt.



Hình 5.8. Quy trình chức năng hóa bề mặt điện cực vàng trong vi kênh để cố định anti-NSE và phát hiện protein NSE

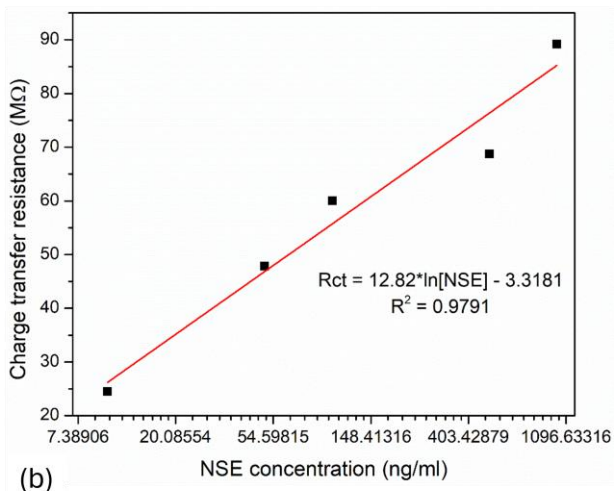
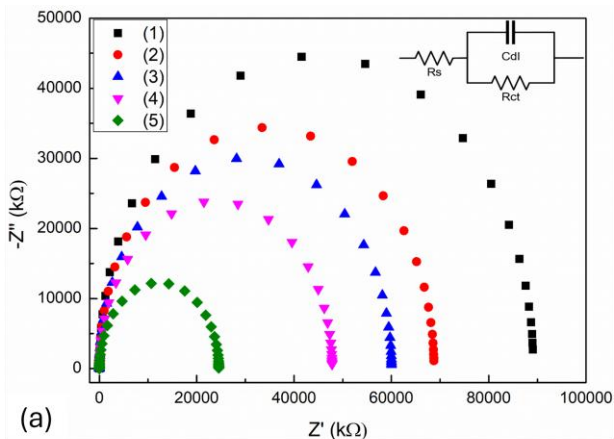


Hình 5.11. Sự thay đổi của tín hiệu EIS sau các bước cố định anti-BSA, BSA, và tập trung BSA.

## 5.7. Thiết lập thí nghiệm



Đối với chip vi lưu phát hiện protein NSE, điện cực được kết nối với thiết bị Palmsen 4 theo từng nồng độ NSE để thực hiện đo EIS trong dung dịch PBS 1X.



Hình 5.13. (a) Sự thay đổi tín hiệu EIS tại các nồng độ NSE khác nhau: (1) 1000 ng/ml, (2) 500 ng/ml, (3) 100 ng/ml, (4) 50 ng/ml, (5) 10 ng/ml; (b) Mối quan hệ giữa điện trở truyền tải điện tích và nồng độ NSE

### 5.8. Kết quả tập trung và phát hiện protein BSA

Đối với quá trình tập trung protein, vùng tập trung dần được hình thành sau khi cung cấp điện áp vào hai đầu của các vi kênh. Cường độ huỳnh quang của vùng tập trung protein tăng nhanh theo thời gian. Kết quả đo EIS được minh họa trong Hình 5.11, thể hiện các tín hiệu EIS sau bước cố định anti-BSA (đường cong màu đen), sau khi tập trung protein BSA (đường cong màu xanh dương), và sau khi bắt cặp BSA trong 2 giờ mà không qua quá trình tiền tập trung (đường cong màu đỏ).

### **5.9. Kết quả phát hiện protein NSE**

Đối với các nồng độ NSE khác nhau, kết quả thí nghiệm cho thấy tín hiệu EIS thay đổi đáng kể khi nồng độ NSE tăng, như thể hiện trong Hình 5.13 (a). Hình 5.13 (b) chỉ ra mối quan hệ giữa điện trở chuyển tải điện và nồng độ NSE. Kết quả cho thấy giới hạn phát hiện (LoD) của cảm biến khoảng 1.005 ng/ml, với độ lệch chuẩn là 0.0212 M $\Omega$ .

### **Kết luận và hướng phát triển của luận án**

Trong nghiên cứu này, một hệ thống phát hiện protein đã được phát triển thành công, mang lại một nền tảng đầy hứa hẹn cho xét nghiệm tại chỗ trong chẩn đoán y tế. Hệ thống này tích hợp một chip vi lưu với bộ tập trung protein, một cảm biến sinh học miễn dịch điện hóa và các mạch đo và điều khiển. Bộ tập trung có cấu trúc cực cửa kép, với một vi kênh chính để điều khiển mẫu và hai vi kênh phụ để tạo ra vùng nghèo. Các vi kênh này được kết nối với nhau qua một màng chọn lọc ion mỏng, được tạo thành từ dung dịch Nafion sử dụng kỹ thuật tạo mẫu dòng vi. Một mô hình transistor trường tiếp giáp kênh N đã được giới thiệu để làm rõ nguyên lý hoạt động của chip tập trung protein. Quá trình chế tạo bộ tập trung dựa trên một quy trình photolithography đơn giản sử dụng cản quang khô giúp có thể chế tạo ở điều kiện thường mà không cần sử dụng phòng sạch. Sự thay đổi trở kháng trong vùng tập trung cũng đã được phân tích bằng cách tích hợp một cấu trúc điện cực vàng bên trong kênh chính, và sự thay đổi trở kháng được giải thích bằng mô hình Randles.

Cảm biến miễn dịch điện hóa được thiết kế với cấu hình ba điện cực, bao gồm điện cực làm việc và điện cực đối bằng vàng, và điện cực tham chiếu Ag/AgCl. Bề mặt điện cực làm việc được sửa đổi để gắn kết kháng thể, tạo thành cảm biến sinh học. Sự liên kết đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể trên bề mặt cảm biến được phát hiện qua các phương pháp huỳnh quang (cho BSA-FITC) và kỹ thuật đo điện hóa, chẳng hạn như phép đo điện thế quét vòng (CV) và quét phổ trở kháng điện hóa (EIS). Việc kết hợp cảm biến miễn dịch sinh học với bộ tập trung trong chip vi lưu đã tăng cường cả tính chọn lọc và giới hạn phát hiện (LoD) của cảm biến sinh học. Ngoài ra, một thiết bị di động đã được phát triển để tích hợp chip vi lưu với các mạch đo và điều khiển, tạo thành một thiết bị chẩn đoán tại chỗ. Thiết bị này có thể cung cấp điện áp cho bộ tập trung protein và thực hiện các phép đo điện hóa để phát hiện và định lượng nồng độ protein, các kết quả được hiển thị trên màn hình.

Kết quả nghiên cứu đã chứng minh hiệu suất tốt của hệ thống và nhấn mạnh nhiều ưu điểm vượt trội. Nền tảng này có tiềm năng lớn trong các ứng dụng y tế trong tương lai, cho phép phát hiện các phân tử sinh học và chẩn đoán bệnh thông qua các phép đo điện hóa và trở kháng. Nó hứa hẹn sẽ nâng cao khả năng chẩn đoán, đặc biệt là đối với ung thư và các bệnh phức tạp khác, mở ra con đường cho việc phát hiện và theo dõi bệnh tật hiệu quả hơn.

## CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CỦA TÁC GIẢ ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Chi Tran Nhu**, Phu Nguyen Dang, Loc Do Quang, Trinh Chu Duc, Chun-Ping Jen, Tung Bui Thanh, “*Development of a microfluidic chip for protein preconcentration using dual gate structure and nanomembrane*”, (2023), *Microsystem Technologies* vol. 29, no. 12, pp. 1757-1767 (WoS, Q3).
2. **Chi Tran Nhu**, Loc Do Quang, Chun-Ping Jen, Trinh Chu Duc, Tung Bui Thanh, “*Development of a Protein Enrichment and Detection Microfluidic Platform based on Ion Concentration Polarization (ICP) and Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) Techniques*”, (2024), *IEEE Sensors Letters* vol. 8, no. 9, pp. 1-4 (WoS, Q2).
3. **Chi Tran Nhu**, Tuan Vu Quoc, Loc Do Quang, Phu Nguyen Dang, Jen ChunPing, Trinh Chu Duc, Tung Bui Thanh, “*Comparison of faradaic and nonfaradaic impedance biosensors using 2-electrode and 3-electrode configurations for the determination of bovine serum albumin (BSA)*”, (2024), *Analytical Letters* vol. 57, no. 17, pp. 2959–2971 (WoS, Q3).
4. **Chi Tran Nhu**, Tuan Vu Quoc, Loc Do Quang, Phu Nguyen Dang, Son Nguyen Hong, Trinh Chu Duc, Tung Bui Thanh, “*Novel, compact electrochemical and impedance instrumentation*”, (2024), *Instrumentation Science and Technology*, pp. 1-16 (WoS, Q3).
5. **Chi Tran Nhu**, Phu Nguyen Dang, Manh Pham Tien, Trinh Chu Duc, Tung Bui Thanh, Loc Do Quang, “*Functionalization of Carbon Electrode Surface Using Polyaniline and Gold Nanoparticles for Protein Immobilization*”, (2024), *Analytical Letters*, pp. 1–15 (WoS, Q3).
6. **Chi Tran Nhu**, Bui Thanh Tung, Chu Duc Trinh, Nguyen Dang Phu, “*Development of a Non-Enzyme Sensor to Detect Glucose Based on the Modification of Copper Electrode*”, (2023), *Arabian Journal for Science and Engineering*, vol. 49, pp. 9849–9858 (WoS, Q1).
7. **Chi Tran Nhu**, Phu Nguyen Dang, Linh Huynh Thi Thuy, Loc Do Quang, Thuy Nguyen Tran, Trung Le Thanh, Thanh Le Ngoc, Trinh Chu Duc, Tung Bui Thanh, “*An evaluation of a gold surface functionalization procedure for antibody binding and protein detection using 11-mercaptopundecanoic acid (11- MUA)*”, (2024), *Biomedical*

- Engineering: Applications, Basis and Communications, vol. 36, no. 02, pp. 2450002 (WoS, Q4).
8. **Chi Tran Nhu**, Anh Phan Hoang, Tuan Vu Quoc, Loc Do Quang, Phu Nguyen Dang, Trinh Chu Duc, Tung Bui Thanh, “*Development of a Low-Cost and Compact Medical Image Reconstruction Platform Based on EIT Technique*”, (2024), IETE Journal of Research, vol. 70, no. 08, pp. 7044–7057 (WoS, Q3).
  9. **Chi Tran Nhu**, Huynh Thi Thuy Linh, Nguyen Canh Viet, Do Quang Loc, Vu Quoc Tuan, Tran Thi Thuy Ha, Vu Ngoc Trung, Jen Chun-Ping, Chu Duc Trinh, Bui Thanh Tung, Nguyen Dang Phu, “*Development of an immunosensor based on the screen-printed gold electrodes for bovine serum albumin detection*”, (2024), International Journal of Nanotechnology (IJNT), Accepted (WoS, Q4).
  10. **Chi Tran Nhu**, Trung Vu Ngoc, Jen Chun-Ping, Loc Do Quang, Trinh Chu Duc, Tung Thanh Bui, “*NSE protein detection in a microfluidic channel integrated an electrochemical biosensor*”, (2024) Biomedical Physics and Engineering Express Vol 11, No. 1, pp. 1-10 (WoS, Q3)
  11. **Chi Tran Nhu**, Nguyen Tran Thuy, Nguyen Cong Huu, Le Thanh Trung, Do Quang Loc, Bui Thanh Tung, “*Development of a Compact System Integrating Pre-Concentrator and Electrochemical Measurements for Protein PreConcentration and Detection*”, (2024), in The 10th IEEE International Conference on Communications and Electronics - IEEE ICCE 2024, pp. 178-183.
  12. **Chi Tran Nhu**, Loc Do Quang, Chun-Ping Jen, Thuy Nguyen Tran, Huu Nguyen Cong, Trinh Chu Duc, Tung Thanh Bui, “*A Novel Approach to Detect Protein Utilizing the Microfluidic Pre-Concentrator Based on The Impedance Measurement Method*”, (2023), in 2023 1st International Conference on Health Science and Technology (ICHST), pp. 1-5.
  13. **Chi Tran Nhu**, Phu Nguyen Van, Loan Do Thi, Loc Do Quang, Chun-Ping Jen, Trinh Chu Duc, Tung Bui Thanh, “*Research and Development of A Portable Impedance Measurement System Utilizing AD5941 Analog Integrated Circuit for A549 Lung Cancer Cell Detection*”, (2023), in 2023 1st International Conference on Health Science and Technology (ICHST), pp. 1-6.

14. **Chi Tran Nhu**, Phu Nguyen Dang, Hang Tran Thanh, Thom Vu Thi, Loc Do Quang, Tung Bui Thanh, “*A protein preconcentration platform utilizing dual gate structure and ion-selective membrane*”, (2022), in 2022 IEEE Ninth International Conference on Communications and Electronics (ICCE), pp. 195-198.
15. **Chi Tran Nhu**, Huynh Thi Thuy Linh, Nguyen Canh Viet, Do Quang Loc, Le Van Chieu, Vu Ngoc Trung, Jen Chung Ping, Chu Duc Trinh, Bui Thanh Tung, “*Detection and quantification of bovine serum albumin using screenprinted gold electrodes and electrochemical measurements*”, (2023), in The 8th International Workshop on Nanotechnology and Application (IWNA 2023), pp. 254-257.
16. **Chi Tran Nhu**, Do Quang Loc, Nguyen Dang Phu, Nguyen Cong Huu, Nguyen Tran Thuy, Chu Duc Trinh, Bui Thanh Tung, “*A novel surface functionalization process for carbon electrodes based on the combination of conducting polymer and gold nanoparticles for protein detection*”, (2023), in The 8th International Workshop on Nanotechnology and Application (IWNA 2023), pp. 258-261.
17. **Chi Tran Nhu**, Do Quang Loc, Jen Chung Ping, Chu Duc Trinh, Bui Thanh Tung, “*Research and Detection of Bovine Serum Albumin using the ScreenPrinted Gold Electrode*”, (2023), in The 4th International Workshop on Advanced Materials and Devices (IWAMD 2023), pp. 52-55.