

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

NGUYỄN ĐỨC GIANG

**NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN CẢM BIẾN ĐIỆN DUNG VI
LỎNG PHÁT HIỆN TẾ BÀO SỐNG A549**

Ngành : Công nghệ Kỹ thuật Điện tử, Truyền thông

Chuyên ngành : Kỹ thuật Điện tử

Mã ngành : 60520203

**LUẬN VĂN THẠC SĨ
CÔNG NGHỆ KỸ THUẬT ĐIỆN TỬ, TRUYỀN THÔNG**

Giáo viên hướng dẫn: **TS. Bùi Thanh Tùng**

HÀ NỘI - 2016

Lời cảm ơn

Luận văn này được thực hiện với sự tài trợ của trung tâm hỗ trợ nghiên cứu Châu Á & quỹ giáo dục cao học Hàn Quốc thông qua đề tài “Nghiên cứu phát triển hệ thống cảm biến vi lỏng phát hiện tế bào sống cho một số ứng dụng y sinh học”, mã số CA.16.3A.

Để hoàn thành luận văn này, tôi xin chân thành cảm ơn các thầy cô giáo đã tận tình hướng dẫn, giảng dạy trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và rèn luyện cũng như trong quá trình thực hiện đề tài ở trường Đại học Công Nghệ - ĐHQGHN. Tôi xin cảm ơn các thầy cô giáo đã có những ý kiến đóng góp và động viên kịp thời giúp tôi hoàn thành luận văn này.

Trong quá trình thực hiện luận văn không thể tránh khỏi những sai sót, tôi rất mong nhận được những ý kiến đóng góp của quý thầy cô và tất cả các bạn đọc để tôi có thể tiếp tục phát triển và hoàn thiện đề tài này.

Hà Nội, tháng 11, 2016

Nguyễn Đức Giang

Lời cam đoan

Tôi xin cam đoan đề tài “NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN CẢM BIẾN ĐIỆN DUNG VI LÔNG PHÁT HIỆN TẾ BÀO SỐNG A549” do TS. Bùi Thanh Tùng hướng dẫn là công trình nghiên cứu của tôi, không sao chép các tài liệu hay công trình của người nào khác.

Tất cả những tài liệu tham khảo phục vụ cho đề án này đều được nêu nguồn gốc rõ ràng trong danh mục tài liệu tham khảo và không có việc sao chép tài liệu hoặc đề tài khác mà không ghi rõ về tài liệu tham khảo.

Hà Nội, tháng 11, 2016

Nguyễn Đức Giang

Mục lục

Lời cảm ơn.....	i
Lời cam đoan	ii
Mục lục	iii
Danh mục hình vẽ.....	v
Danh mục bảng biểu.....	vii
Tóm tắt khóa luận	viii
MỞ ĐẦU	2
Tổng quan.....	2
CHƯƠNG 1: GIỚI THIỆU CHUNG	4
1.1. Tổng quan về ung thư và phương pháp điều trị.....	4
1.2. Yêu cầu phát hiện tế bào.....	6
1.3. Điện dung	9
1.4. Hằng số điện môi.....	10
1.5. Một số ứng dụng của cảm biến điện dung.....	11
1.5.1. Cảm biến tiệm cận (proximity sensor)	11
1.5.2. Cảm biến vị trí (position sensor)	12
1.5.3. Cảm biến độ ẩm (humidity sensor).....	13
1.5.4. Cảm biến áp suất (pressure sensor)	13
1.5.5. Cảm biến góc nghiêng (tilt sensors)	14
CHƯƠNG 2: KÊNH VI LỒNG TÍCH HỢP CẢM BIẾN ĐIỆN DUNG.....	15
2.1. Vật liệu tương thích sinh học PDMS.....	15
2.2. Kênh vi lõng	16
2.3. Cấu trúc cảm biến điện dung đồng phẳng	18
2.4. Vi cảm biến điện dung đồng phẳng.....	20
CHƯƠNG 3: THAO TÁC TẬP TRUNG TẾ BÀO SỬ DỤNG HIỆU ỨNG ĐIỆN ĐIỆN MÔI 22	
3.1. Giới thiệu hiệu ứng DEP	22
3.2. Lực DEP	23
3.3. Ứng dụng DEP.....	23
CHƯƠNG 4: CẢM BIẾN ĐIỆN DUNG VI LỒNG PHÁT HIỆN TẾ BÀO SỐNG A549 26	
4.1. Cảm biến điện dung vi lõng.....	26
4.2. Tế bào A549	29
4.3. Thiết kế mô phỏng.....	31

4.4. Thiết lập hệ đo	35
KẾT LUẬN	38
TÀI LIỆU THAM KHẢO	39

Danh mục hình vẽ

Hình 1.1 Sự phát triển của khối u thông qua CTC [7]. Tế bào ung thư hình thành và phát triển tại vị trí nguyên phát (I), lây lan từ biểu mô vào trung mô (II), tế bào ung thư đi vào trong mạch máu (III), trôi theo dòng máu, mắc lại ở một nơi nào đó (thường là các mạch máu nhỏ) và sinh sôi, tăng trưởng phát triển thành khối u ở đó (IV)	6
Hình 1.2 Một số phương pháp tầm soát sự tồn tại của các tế bào ung thư dựa vào (1) Xét nghiệm đặc hiệu sinh học (2) Đặc tính vật lý của CTC (3) tầm soát trực tiếp [7].....	7
Hình 1.3: Hai tấm tích điện song song cách nhau bởi điện môi [32].	9
Hình 2.1: Cấu tạo phân tử của Polydimethylsiloxane (PDMS)	16
Hình 2.2 Cấu trúc cảm biến trở kháng phát hiện tế bào	17
Hình 2.3: Quy trình chế tạo khuôn bằng vật liệu SU-8.....	17
Hình 2.4: Quy trình chế tạo chip PDMS từ khuôn SU-8	17
Hình 2.5: Quy trình chế tạo đế thủy tinh tích hợp cảm biến dung kháng	18
Hình 2.6 Quy trình hàn gắn chip độ chính xác cao tạo vi kênh dẫn.....	18
Hình 2.7 Thiết kết C ⁴ D [24].	18
Hình 2.8: Thiết kế của một cấu trúc C ⁴ D đơn: (a) Điện cực kích thích và điện cực thu nhận; (b) mạch điện tương đương.	19
Hình 2.9: Cấu tạo của một cảm biến điện dung vi lỏng [29].	21
Hình 4.1: Cảm biến điện dung vi lỏng phát hiện tế bào [33].	26
Hình 4.2 Phác thảo của thiết bị vi lỏng cho các thao tác lên tế bào mục tiêu và phát hiện, (a) Tế bào mục tiêu và tế bào không phải mục tiêu được phân bố ngẫu nhiên. (b) Các tế bào được tác động bởi hiệu ứng DEP để di chuyển đến trung tâm. Tế bào mục tiêu bị bắt giữ bởi các aptamer ràng buộc phía trên các điện cực được thiết kế. (c) Tế bào không phải mục tiêu được rửa đi, chỉ còn lại tế bào mục tiêu, được duy trì do kết hợp với các aptamer. (d) Điện dung vi sai được sử dụng để xác định sự hiện diện của các tế bào mục tiêu.....	27
Hình 4.3: Quy trình nuôi cấy tế bào ung thư phổi A549.....	29
Hình 4.4: Tế bào trước, trong và sau quá trình nuôi cấy phân chia.	31
Hình 4.5: Kết quả mô phỏng biểu diễn phân bố điện trường (E ₂) trong quá trình tập trung tế bào vào vùng cảm biến. Tín hiệu điều khiển có biên độ đỉnh- đỉnh 16V, tần số 1 MHz.	32

Hình 4.6: Kết quả mô phỏng thực hiện tập trung tế bào vào vùng cảm biến. Tín hiệu điều khiển có biên độ đỉnh-đỉnh 16V, tần số 1 MHz.	32
Hình 4.7 Phân bố của cường độ điện trường giữa các điện cực cảm biến trái và điện cực trung tâm khi một tế bào A549 duy nhất được đặt tại các điện cực bắt. (a) Nhìn từ trên xuống. (b) Mặt cắt ngang.	34
Hình 4.8: Lượng điện dung khác biệt so với số tế bào. Các trục y, trục x là lượng điện dung khác biệt và số lượng của các hạt, tương ứng.	35
Hình 4.9: Sơ đồ khối hệ thống đo đạc thực nghiệm.	36
Hình 4.10: Hình ảnh quan sát tế bào ung thư phổi A549 và cấu trúc thao tác tế bào DEP. (a) Tế bào A549. (b) Cấu trúc DEP.	37

Danh mục bảng biểu

Bảng 4.1: Các tham số hình học sử dụng cho tính toán mô phỏng [10]	28
Bảng 4.2: Bảng các thông số kích thước và tính chất điện của tế bào hồng cầu (red blood cell - RBC) [18-20] và tế bào ung thư [9-10] sử dụng cho mô phỏng tính toán	28

Tóm tắt khóa luận

Ung thư đã và đang được xem là căn bệnh của xã hội thời hiện đại. Trong quá trình sinh bệnh, các tế bào ung thư tách ra khỏi khối u ban đầu và đi vào máu, trở thành các tế bào ung thư tuần hoàn (CTCs) và có thể được coi như giai đoạn đầu của quá trình di căn. Khi các CTCs di chuyển khắp cơ thể và bám rễ chỗ nào thì nó có thể tạo nên khối u chỗ đó và trở thành mối đe dọa mới. Việc phát hiện sớm bệnh càng sớm càng tốt bởi các bác sĩ sẽ có phương pháp điều trị thích hợp và hiệu. Công nghệ phát hiện/xác định các đối tượng sinh học, thường có kích thước nhỏ (từ vài trăm nanomet-kích thước của virut đến khoảng 20 micromet-kích thước của tế bào ung thư), sử dụng lượng mẫu bệnh phẩm ít, hiện vẫn còn gặp nhiều thách thức, độ chính xác chưa cao hoặc quá cồng kềnh, vẫn cần đầu tư nghiên cứu cải tiến. Việc phát triển các chip vi lỏng dựa trên công nghệ vi chế tạo, có khả năng phát hiện tế bào sống một cách chính xác, nhỏ gọn và tự động hóa cao đóng vai trò quan trọng, là tiền đề để phát triển các hệ thống chuẩn đoán sớm bệnh. Luận văn này thực hiện việc nghiên cứu, thiết kế, mô phỏng hệ thống cảm biến vi lưu phát hiện tế bào sống A549 phục vụ cho mục đích tầm soát bệnh. Một cấu trúc tập trung tế bào sống tích hợp cảm biến điện dung phát hiện tế bào đã được thiết kế dựa trên công nghệ vi cơ lỏng và vật liệu tương thích sinh học. Hệ thống được mô phỏng xác nhận hoạt động sử dụng phương pháp phân tích các phần tử hữu hạn (FEM) dùng COMSOL Multiphysics. Quy trình chế tạo cảm biến điện dung vi lỏng phát hiện tế bào sống A549 đã được nghiên cứu xây dựng dựa trên công nghệ vi chế tạo. Hệ thống đo đạc thử nghiệm hệ thống kênh dẫn vi lỏng tích hợp cảm biến điện dung cũng đã được xây dựng phục vụ cho thực nghiệm phát hiện tế bào sống A549. Kết quả từ nghiên cứu này là tiền đề quan trọng trong việc phát triển hệ thống kênh vi lỏng phát hiện tế bào sống A549 phục vụ cho xét nghiệm tầm soát bệnh.

MỞ ĐẦU

Tổng quan

Ung thư đã và đang được xem là căn bệnh của xã hội thời hiện đại. Cùng với các yếu tố di truyền, các loại hóa chất độc hại từ các sản phẩm gia dụng, tia cực tím, khói bụi công nghiệp, môi trường sống bị ô nhiễm, thói quen sinh hoạt thiếu khoa học, uống nhiều bia rượu, hút thuốc lá... đã đẩy nhanh số ca mắc bệnh ung thư trên toàn thế giới. Bệnh ung thư là nguyên nhân gây tử vong thứ hai chỉ sau bệnh tim mạch. Tại Việt Nam, mỗi năm có khoảng 150.000 trường hợp mới mắc ung thư và khoảng 75.000 trường hợp tử vong do ung thư. Trong quá trình sinh bệnh, các tế bào ung thư tách ra khỏi khối u ban đầu và đi vào máu, trở thành các tế bào ung thư tuần hoàn (CTCs) và có thể được coi như giai đoạn đầu của quá trình di căn. Hơn nữa ngay cả khi căn bệnh ung thư đã được trị khỏi thì nó vẫn có thể tái phát và lan sang các mô khác. Nguyên nhân là do các mầm móng ung thư có thể phát tán các tế bào vào trong máu. Khi các CTCs di chuyển khắp cơ thể và bám rễ chỗ nào thì nó có thể tạo nên khối u chỗ đó và trở thành mối đe dọa mới. Ung thư phổi là loại ung thư phổ biến trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Đây là loại ung thư chiếm tỷ lệ tử vong và mắc mới cao nhất trong số các loại ung thư nói chung. Đặc biệt tại Việt Nam, ung thư phổi gây ra tỷ lệ tử vong cao nhất ở nam giới. Ở các nước đang phát triển, trong đó có Việt Nam, tỷ lệ bệnh nhân ung thư phổi sống 5 năm chỉ chiếm khoảng 8,7% [25].

Việc phát hiện sớm bệnh càng sớm càng tốt bởi các bác sĩ sẽ có phương pháp điều trị thích hợp và hiệu quả. Trong kỹ thuật tầm soát bệnh các bác sĩ thường lấy máu của bệnh nhân rồi dùng các kháng thể đặc hiệu để tìm kiếm sự hiện diện của bệnh. Tuy nhiên, phương pháp này chỉ cho kết quả nếu biểu hiện bệnh đã rõ ràng, còn với bệnh đang ở giai đoạn sớm, lượng dấu hiệu còn nhỏ thì khó phát hiện chính xác.

Trong những năm gần đây, cùng với sự phát triển của công nghệ Vi chế tạo, công nghệ Vi cơ điện tử đã gặt hái được nhiều thành tựu và đã có nhiều sản phẩm được ứng

dụng rộng rãi trong thực tế. Cùng với đó công nghệ vi lỏng (micro fluidic) cũng đã và đang được đầu tư nghiên cứu phát triển, và ngày càng có vai trò trong lĩnh vực nghiên cứu y sinh học [1]–[4].

Công nghệ phát hiện/xác định các đối tượng sinh học, thường có kích thước nhỏ (từ vài trăm nanomet-kích thước của virus đến khoảng 20 micromet-kích thước của tế bào ung thư), sử dụng lượng mẫu bệnh phẩm ít, hiện vẫn còn gặp nhiều thách thức, độ chính xác chưa cao hoặc quá cồng kềnh, vẫn cần đầu tư nghiên cứu cải tiến. Việc phát triển các chip vi lỏng dựa trên công nghệ vi chế tạo, có khả năng phát hiện tế bào sống một cách chính xác, nhỏ gọn và tự động hóa cao đóng vai trò quan trọng, là tiền đề để phát triển các hệ thống chuẩn đoán sớm bệnh.

Mục tiêu của đề tài:

Mục tiêu của đề tài là nghiên cứu, thiết kế, chế tạo hệ thống cảm biến vi lưu phát hiện tế bào sống A549 phục vụ cho mục đích tầm soát bệnh. Một số mục tiêu cụ thể như sau:

- + Nghiên cứu, thiết kế, cảm biến điện dung vi lỏng dựa trên công nghệ vi cơ lỏng
- + Mô phỏng hoạt động cảm biến điện dung vi lỏng phát hiện tế bào ung thư phổi A549
- + Xây dựng quy trình chế tạo thử nghiệm và đo thử hệ thống kênh dẫn vi lỏng tích hợp cảm biến điện dung dựa trên công nghệ vi chế tạo và vật liệu polymer tương thích sinh học.

CHƯƠNG 1: GIỚI THIỆU CHUNG

1.1. Tổng quan về ung thư và phương pháp điều trị

Ung thư đã và đang được xem là căn bệnh của xã hội thời hiện đại. Cùng với các yếu tố di truyền, các loại hóa chất độc hại từ các sản phẩm gia dụng, tia cực tím, khói bụi công nghiệp, môi trường sống bị ô nhiễm, thói quen sinh hoạt thiếu khoa học, uống nhiều bia rượu, hút thuốc lá... đã đẩy nhanh số ca mắc bệnh ung thư trên toàn thế giới. Bệnh ung thư là nguyên nhân gây tử vong thứ hai chỉ sau bệnh tim mạch. Tại Việt Nam, mỗi năm có khoảng 150.000 trường hợp mới mắc ung thư và khoảng 75.000 trường hợp tử vong do ung thư.

Ung thư là tên dùng chung để gọi một nhóm bệnh gồm nhiều loại khác nhau (khoảng gần 200 loại) có chung một đặc điểm nổi bật là các tế bào ung thư có khả năng xâm lấn, phát triển và tồn tại ở các cơ quan, tổ chức khác trong cơ thể. Đây là bệnh ác tính của tế bào, trong đó các tế bào ung thư tăng sinh nhanh, vô tổ chức và thường xâm lấn vào các tổ chức xung quanh làm rối loạn chức năng của các tổ chức cơ quan này.

Nguyên nhân, tiến triển, cách thức điều trị các bệnh ung thư khác nhau là khác nhau. Ung thư thường không phải do một nguyên nhân gây ra. Có thể chia các nguyên nhân gây ung thư ra thành hai nhóm lớn đó là (1) các nguyên nhân bên ngoài bao gồm các tác nhân vật lý, tác nhân hóa học, tác nhân sinh học, và (2) các nguyên nhân bên trong liên quan đến các vấn đề như nội tiết tố, enzym và chất vi lượng, các yếu tố di truyền, suy giảm miễn dịch và AIDS.

Trong quá trình sinh bệnh, các tế bào ung thư tách ra khỏi khối u ban đầu và đi vào máu, trở thành các tế bào ung thư tuần hoàn (CTCs) và có thể được coi như giai đoạn đầu của quá trình di căn. Hơn nữa ngay cả khi căn bệnh ung thư đã được trị khỏi thì nó vẫn có thể tái phát và lan sang các mô khác. Nguyên nhân là do các mầm mống ung thư có thể phát tán các tế bào vào trong máu. Khi các CTC di chuyển khắp cơ thể và bám rễ

chỗ nào thì nó có thể tạo nên khối u chỗ đó và trở thành mối đe dọa mới. Ung thư phổi là loại ung thư phổ biến trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Đây là loại ung thư chiếm tỷ lệ tử vong và mắc mới cao nhất trong số các loại ung thư nói chung. Đặc biệt tại Việt Nam, ung thư phổi gây ra tỷ lệ tử vong cao nhất ở nam giới. Ở các nước đang phát triển, trong đó có Việt Nam, tỷ lệ bệnh nhân ung thư phổi sống 5 năm chỉ chiếm khoảng 8,7% [25].

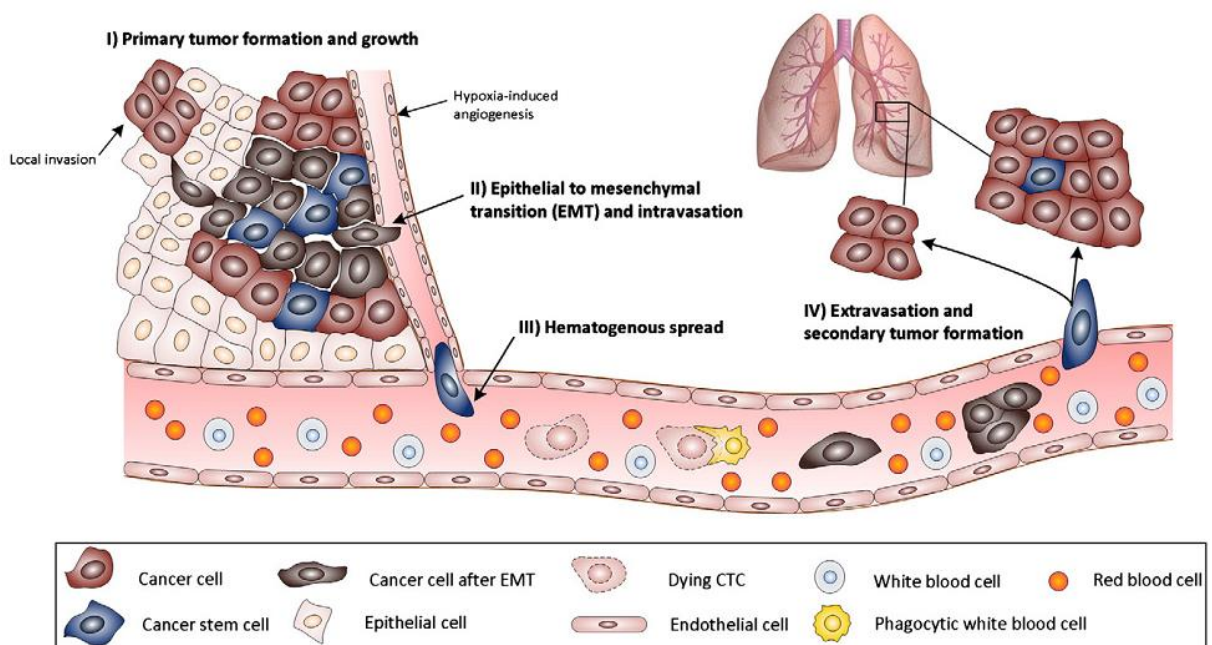
Một số phương pháp điều trị ung thư hiện đang được thực hiện có thể kể đến là:

- Điều trị phẫu thuật: Từ trước đến nay, phẫu thuật vẫn là phương pháp chủ yếu để điều trị đại đa số các bệnh nhân ung thư còn có khả năng phẫu thuật được. Phẫu thuật ung thư có thể được dùng để chẩn đoán, điều trị, xác định giai đoạn bệnh hoặc làm giảm các triệu chứng do ung thư gây ra. Phẫu thuật có thể là điều trị duy nhất hoặc có thể phối hợp với các phương pháp điều trị khác như xạ trị, hóa trị, liệu pháp hormon và liệu pháp sinh học.
- Điều trị tia xạ: Là phương pháp sử dụng nguồn năng lượng cao từ tia X, tia γ , neutron và các nguồn phóng xạ khác để tiêu diệt tế bào ung thư và các khối u. Xạ trị thường dùng để hỗ trợ cho biện pháp phẫu thuật trong trường hợp khối u quá lớn thì có thể tiến hành xạ trị trước hoặc sau mổ mà có lo ngại ung thư tái phát. Các kỹ thuật xạ trị đang được áp dụng hiện nay gồm chiếu xạ từ ngoài vào, xạ trị áp sát (Brachytherapie) và uống hoặc tiêm các thuốc có đồng vị phóng xạ để diệt tế bào ung thư. Một số tác dụng không mong muốn thường gặp của xạ trị là mệt mỏi, chán ăn, khô và bong da, viêm loét niêm mạc, giảm các dòng bạch cầu, tiểu cầu, hồng cầu.
- Điều trị bằng hóa chất: Là phương pháp sử dụng hóa chất có khả năng tiêu diệt hoặc ngăn chặn sự phát triển của tế bào ung thư. Phương pháp này được áp dụng khi ung thư đã lan ra ngoài vị trí ban đầu hoặc khi có di căn ở nhiều địa điểm. Trong điều trị phối hợp, hóa chất có thể dùng trước hoặc dùng sau các phương pháp khác để ngăn ngừa sự phát triển các vi di căn. Cho đến nay, hóa trị liệu vẫn được xem là phương pháp điều trị hiệu quả nhưng thường đi kèm với nhiều tác dụng phụ như buồn nôn, nôn, chán ăn, rối loạn tiêu hóa, rụng tóc, xạm da, thay đổi các chỉ số về xét nghiệm máu, chức năng gan, thận... Hiện nay có khoảng 200 loại thuốc chống ung thư được sử dụng trên lâm sàng và được phân chia thành các nhóm như nhóm alkyl hóa (thuốc Cyclophosphamide, Cisplatin, Carboplatin), nhóm thuốc chống chuyển hoá (5-fluorouracil, Mercaptopurine, Methotrexate), nhóm thuốc ức chế sự phân bào (Vincristine, Vinblastine, Taxol), nhóm kháng sinh kháng ung thư (Adriamycin, Mitomycin, Plicamycin).
- Điều trị nội tiết: Điều trị nội tiết đóng vai trò quan trọng trong chiến lược điều trị một số loại ung thư, đặc biệt là các ung thư đặc trưng liên quan đến giới. Điều trị nội tiết trong ung thư có thể bằng các cách sau:

- + Loại bỏ các hormon trực tiếp kích thích khối u phát triển bằng cách cắt bỏ tuyến nội tiết như cắt buồng trứng trong ung thư vú.
- + Dùng thuốc ức chế sản xuất nội tiết tố hoặc ức chế, cạnh tranh tác dụng của nội tiết tố trên tế bào ung thư.
- + Dùng các nội tiết tố (hormon): ví dụ như dùng Megestrol acetat trong điều trị ung thư nội mạc tử cung...
- Điều trị miễn dịch (Miễn dịch trị liệu): là sử dụng các thuốc làm thay đổi sự tương tác qua lại giữa vật chủ và khối u từ đó mà có tác dụng chống u. Phương pháp này có thể được sử dụng đơn thuần hoặc phối hợp với phẫu thuật, tia xạ và hóa chất.

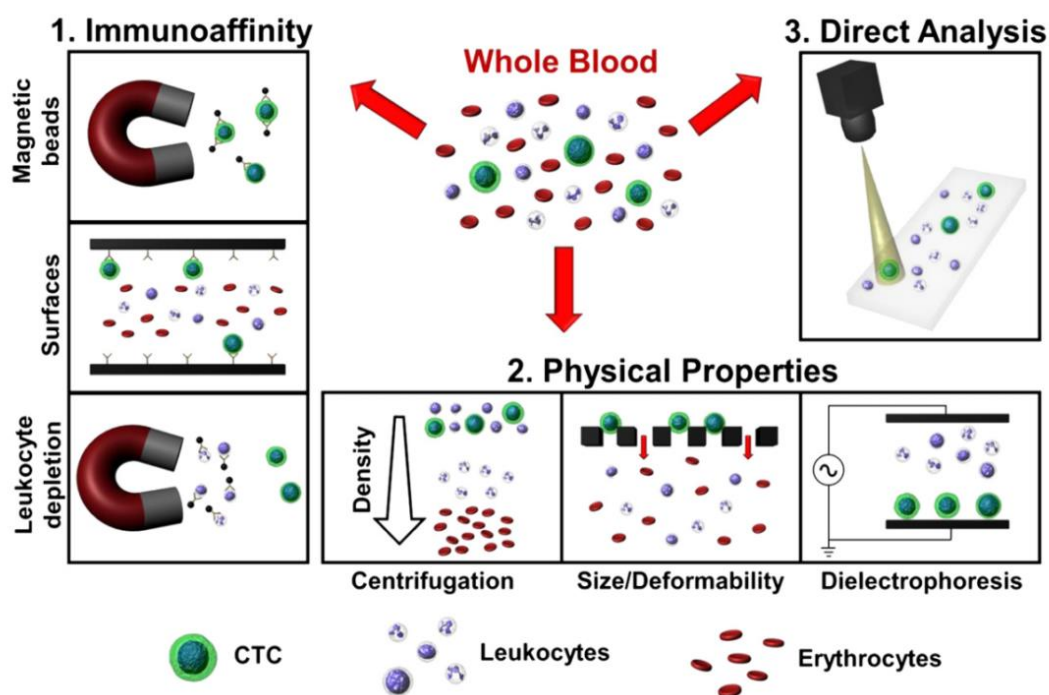
1.2. Yêu cầu phát hiện tế bào

Do ung thư là một căn bệnh phát triển trong một thời gian tương đối dài kể từ khi khởi phát từ một tế bào ban đầu, nên điều trị bệnh là hoàn toàn có thể. Tuy nhiên, khi bệnh ở giai đoạn di căn thì việc điều trị sẽ rất khó khăn và tỷ lệ tử vong cao. Việc phát hiện sớm bệnh càng sớm càng tốt bởi các bác sĩ sẽ có phương pháp điều trị thích hợp và hiệu quả tương ứng với từng thời kỳ phát triển của bệnh. Trong kỹ thuật tầm soát bệnh các bác sĩ thường lấy máu của bệnh nhân rồi dùng các kháng thể đặc hiệu để tìm kiếm sự hiện diện của bệnh. Tuy nhiên, phương pháp này chỉ cho kết quả nếu biểu hiện bệnh đã rõ ràng, còn với bệnh đang ở giai đoạn sớm, lượng dấu hiệu còn nhỏ thì khó phát hiện chính xác.



Hình 1.1 Sự phát triển của khối u thông qua CTC [7]. Tế bào ung thư hình thành và phát triển tại vị trí nguyên phát (I), lây lan từ biểu mô vào trung mô (II), tế bào ung thư đi vào trong mạch máu (III), trôi theo dòng máu, mắc lại ở một nơi nào đó (thường là các mạch máu nhỏ) và sinh sôi, tăng trưởng phát triển thành khối u ở đó (IV)

Một số phương pháp để tách lọc/phát hiện sự tồn tại của các tế bào ung thư dựa vào: (1) Xét nghiệm đặc hiệu sinh học (2) Đặc tính vật lý của CTC (3) tầm soát trực tiếp như mô tả trên Hình 1.2. Nhờ tính chọn lọc cao và ổn định aptamers được sử dụng như một chất hấp thụ ái lực với CTC trong các thiết bị vi lưu cho phép phát hiện tế bào ung thư trong một vài ml máu. Một số tính chất đặc biệt của aptamer làm cho chúng thích hợp hơn so với các kháng thể để hấp thụ CTC. Aptamer là các oligonucleotide DNA chuỗi đơn [5] và chúng ổn định hơn nhiều so với các kháng thể protein nhờ cấu tạo đặc biệt có tính chọn lọc cao đối với các đối tượng, đồng thời chúng cũng dễ dàng thay đổi với các đánh dấu và nhóm hóa học bất kỳ. Do đó, aptamer đang ngày càng được ứng dụng rộng rãi trong các phương pháp dò tìm khác nhau, chẳng hạn như trong kính hiển vi đồng tụ hay hiển vi quang học, dò tìm điện hóa... Những lợi thế cạnh tranh của các cảm biến vi lưu y sinh bao gồm những tính chất đặc biệt của từng thành phần riêng lẻ, cụ thể là việc sử dụng các aptamer với ái lực và tính chọn lọc cao cho các mục tiêu [6].



Hình 1.2 Một số phương pháp tầm soát sự tồn tại của các tế bào ung thư dựa vào (1) Xét nghiệm đặc hiệu sinh học (2) Đặc tính vật lý của CTC (3) tầm soát trực tiếp [7]

Trong những năm vừa qua, tại Việt Nam có một số nhóm nghiên cứu về cảm biến y sinh học và đã đạt được một số kết quả nhất định. Nhóm của PGS.TS. Mai Anh Tuấn, Viện ITIMS, Đại học Bách khoa, Hà Nội với định hướng nghiên cứu cảm biến sinh học điện hoá phát hiện virus Influenza và Rubella sử dụng cảm biến ADN có độ nhạy cao dựa trên cơ sở màng xốp có cấu trúc nano [8], [9].

Nhóm nghiên cứu của Phòng Vật liệu Nano Y sinh, Viện Khoa học Vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, là một nhóm nghiên cứu đi đầu trong lĩnh

vực cảm biến sinh học với nhiều đề tài tập trung vào các hướng như cấu trúc polymer nano ứng dụng y sinh trong hệ dẫn thuốc và cảm biến miễn dịch, vi cảm biến sinh học điện hoá để xác định nhanh độc tố aflatoxin trong sữa [10]; nghiên cứu một số hệ nano tương hợp sinh học lõi hạt từ tính cho chuẩn đoán và chữa bệnh ung thư [11]; nghiên cứu chế tạo và thử nghiệm vật liệu mang thuốc kích cỡ nanomet có khả năng nhả chậm, định hướng chọn lọc đến tế bào ung thư và nghiên cứu quy trình chế tạo hệ dẫn thuốc cấu trúc nano và đánh giá hiệu quả tác động của chúng lên tế bào ung thư người nuôi cấy *in vitro* [12]–[14].

Phòng Công nghệ tế bào động vật, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, đã kết hợp với các đơn vị nghiên cứu về nano thuộc Viện Khoa học vật liệu, Viện vật lý, Viện hóa học tiến hành các đề tài nghiên cứu thuộc hướng công nghệ gen và công nghệ nano. Một trong các hướng nghiên cứu chính của nhóm nghiên cứu là tạo hệ dẫn thuốc hướng đích trong chẩn đoán và điều trị ung thư. Phức hệ dẫn thuốc được tạo ra gồm các 2 phần chính: phần mang thuốc được tạo ra bởi các polymer tự nhiên hoặc polymer tổng hợp; phần hướng đích được đảm nhận bởi các phân tử kháng thể tái tổ hợp hoặc các aptamer đặc hiệu kháng nguyên của tế bào ung thư. Các kháng thể tái tổ hợp đặc hiệu các kháng nguyên HER2, HER1, Cyfra 21-1, CD25, CD20 được tinh sạch sau khi biểu hiện ở các hệ khác nhau (*E. coli*, tế bào côn trùng, trong tằm, trong tế bào CHO, HEK-293) [15]–[21].

Nhóm ICDREC, Đại học Quốc gia TP HCM cũng tập trung nghiên cứu phát hiện dư lượng sinh học trong hải sản dựa trên các cấu trúc vi cân tinh thể thạch anh. Các nghiên cứu này đạt được một số thành công bước đầu, nhóm nghiên cứu này đang phát triển đưa sản phẩm vào ứng dụng trong phát hiện một số các chất khác như ma túy, vi khuẩn *E. coli* O157-H7.

Ngoài các nhóm nghiên cứu nêu trên, còn có một số nhóm khác cũng đang bắt đầu nghiên cứu các hệ thống cảm biến sinh học. Tuy nhiên, các nghiên cứu cảm biến phát hiện tế bào ung thư CTC chưa được thực hiện nhiều tại Việt Nam do yêu cầu độ nhạy rất cao và liên quan đến liên ngành Vi chế tạo, Điện tử, Điều khiển, Sinh học, Vật lý, ...

Tại các phòng thí nghiệm Việt Nam thường sử dụng các dòng tế bào ung thư người như tế bào ung thư cổ tử cung (HeLa), ung thư biểu mô vú (MCF-7), MCF-7 kháng Tamocifen (MCF-7/TamR), MCF-7 kháng Adriamicin (MCF-7/ADR), ung thư phổi (A549), ung thư buồng trứng (OVCAR-8), ung thư gan (HepG2) trong nghiên cứu. Đề tài này lấy tế bào ung thư phổi người A549, một trong những bệnh ung thư phổ biến nhất, làm đối tượng nghiên cứu thực hiện việc phát hiện.

Trong luận văn này, tế bào ung thư phổi A549 được phát hiện dựa trên cảm biến điện dung vi lỏng. Trong phần tiếp theo, cơ sở cảm biến điện dung vi lỏng được trình bày.

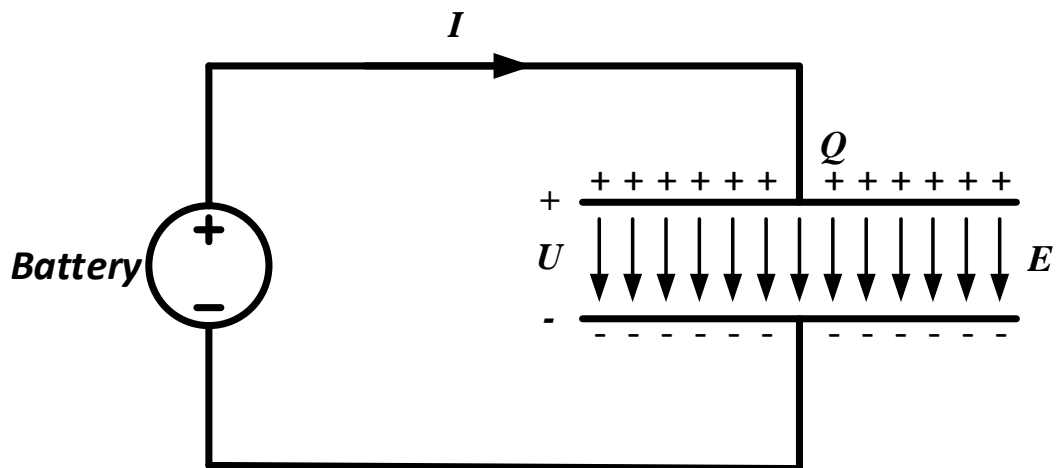
1.3. Điện dung

Điện dung là một trong những tính chất vật lý quan trọng của tụ điện. Đơn vị đo điện dung là Farad (F) được cho bởi công thức (1.1):

$$C = \frac{\Phi}{\int E \cdot dl} \quad (1.1)$$

Trong đó: E là cường độ điện trường, Φ là tổng các điện tích trên các cực và điện dịch trong các phân tử điện môi trong điện trường, dl là chiều dài cơ sở của dòng điện dịch dọc theo hướng điện thông.

Hình 1.3 mô tả hai mặt phẳng dẫn điện được nối với nguồn điện một chiều phân cách nhau bởi vật liệu cách điện và các đường điện trường. Đối với tụ điện gồm hai bản cực song song, điện dung là giá trị thể hiện lượng điện tích mà tụ điện có thể giữ được trên hai bản tụ ở một điện thế cho trước [31].



Hình 1.3: Hai tấm tích điện song song cách nhau bởi điện môi [32].

Điện dung có thể được định nghĩa bằng số cu-lông trên một vôn như công thức (1.2):

$$C = \frac{Q}{U} \quad (1.2)$$

Trong đó, Q là số lượng điện tích trên mỗi bản cực (coulomb),

U là điện thế đặt lên hai bản cực (volts).

Một tụ điện có điện dung một Farad có thể lưu trữ một cu-lông điện tích khi điện áp trên hai đầu bản cực của nó là 1V. Giá trị điện dung điển hình dao động từ khoảng 1 fF (10^{-15} F) đến khoảng 1.000 μ F (10^{-3} F). Một điện trường sẽ tồn tại giữa hai bản cực của một tụ điện nếu điện áp được đặt lên một trong các tấm. Điện trường thu được là do

sự khác biệt giữa các điện tích được lưu trữ trên các bề mặt của mỗi tấm. Điện dung mô tả các hiệu ứng của điện trường bởi không gian giữa hai tấm.

Điện dung phụ thuộc vào hình dạng của các bản cực và không phải dựa trên một nguồn điện tích bên ngoài hay sự khác biệt điện thế. Khoảng cách giữa hai bản cực của tụ điện được phủ bằng vật liệu điện môi. Nhìn chung, giá trị điện dung được xác định bởi các vật liệu điện môi, khoảng cách giữa các tấm, và diện tích mỗi tấm. Điện dung của một tụ điện có thể được biểu diễn dưới dạng hình học của nó và hằng số điện môi như công thức (1.3):

$$C = \frac{\epsilon_0 \epsilon_r A}{d} \quad (1.3)$$

Trong đó,

$\epsilon_0 = 8,854.10^{-12}$ F/m là hằng số điện môi tuyệt đối trong môi trường chân không,

ϵ_r là hằng số điện môi tương đối của vật liệu giữa hai bản tụ,

A là diện tích của mỗi tấm (m^2),

d khoảng cách giữa hai cực (m).

Điện dung có liên quan đến điện trường giữa hai bản của tụ điện. Cường độ điện trường giữa hai bản giảm khi khoảng cách giữa hai bản tăng. Cường độ điện trường thấp hơn hay khoảng cách tách biệt giữa hai bản tụ lớn hơn sẽ làm giảm giá trị điện dung. Các bản tụ dẫn điện với diện tích bề mặt lớn hơn có thể lưu trữ nhiều điện tích hơn. Do đó, để có được giá trị điện dung lớn hơn ta có thể tăng diện tích bề mặt bản tụ lớn hơn.

Ngoài ra, các điện cực của cảm biến điện dung có thể được hình thành theo các hình thức và cấu trúc khác nhau. Hình dạng hình học của các điện cực ảnh hưởng đến điện trường giữa chúng. Trong thực tế, một vài loại điện cực của cảm biến đã được thiết kế và chế tạo, chẳng hạn cảm biến có các bản cực hình trụ, ống hình trụ, tấm hình chữ nhật, dây helixical, tấm đồng phẳng và hình ống.

1.4. Hằng số điện môi

Khoảng cách giữa hai bề mặt cực của một tụ điện được làm đầy bằng một vật liệu không dẫn điện như cao su, thủy tinh hay hạt hoặc chất lỏng phân cách hai điện cực của tụ điện. Vật liệu này có một hằng số điện môi nhất định. Hằng số điện môi là thước đo của sự ảnh hưởng của vật liệu vào điện trường. Điện dung sẽ tăng hoặc giảm tùy thuộc vào loại vật liệu điện môi. Hằng số điện môi liên quan đến khả năng truyền tải một điện trường của vật liệu. Trong các tụ điện, tăng hằng số điện môi cho phép tăng lượng điện tích được lưu với một điện trường nhỏ hơn, dẫn đến điện dung tăng lên.

Dựa vào công thức (1.3) điện dung tỷ lệ thuận với hằng số điện môi. Khi hằng số điện môi giữa các bản cực của một tụ điện tăng, điện dung cũng sẽ tăng theo. Điện dung có thể được tính toán bằng công thức (1.4):

$$C = \epsilon_r C_0 \quad (1.4)$$

Trong đó, C là điện dung (Farad), ϵ_r là hằng số điện môi và C_0 là điện dung khi không có điện môi (điện dung khi hai bản cực được đặt trong chân không).

Các vật liệu khác nhau có độ lớn hằng số điện môi khác nhau. Ví dụ, không khí có hằng số điện môi danh nghĩa bằng 1, một số loại dầu thông thường như xăng dầu có hằng số điện môi danh nghĩa là 2.2, và nước có hằng số điện môi danh nghĩa là 80. Nếu nước được sử dụng như chất điện môi thay cho không khí, giá trị điện dung khi sử dụng nước như chất điện môi sẽ tăng theo hệ số 80. Yếu tố này được gọi là *hằng số điện môi tương đối*.

1.5. Một số ứng dụng của cảm biến điện dung

Một cảm biến điện dung điển hình có nguyên lý dựa trên một sự thay đổi của một trong các thông số, trong cấu trúc tụ điện dẫn đến thay đổi điện dung của tụ. Cảm biến chuyển đổi một sự thay đổi về vị trí, hoặc các đặc tính của vật liệu điện môi thành tín hiệu điện. Theo phương trình (1.3), cảm biến điện dung được thực hiện bằng cách thay đổi bất kỳ một trong ba thông số của một tụ điện: khoảng cách (d), diện tích các tấm điện dung (A), và hằng số điện môi (ϵ_r):

$$C = f(d, A, \epsilon_r) \quad (1.5)$$

Một loạt các loại cảm biến khác nhau đã được phát triển chủ yếu dựa trên các nguyên tắc thay đổi điện dung mô tả trong phương trình (1.3). Dựa vào ba thông số trên ta có thể chế tạo các bộ cảm biến: từ cảm biến độ ẩm, cảm biến cấp độ dòng, cảm biến dịch chuyển. Các loại khác nhau của cảm biến điện dung được sử dụng trong một loạt các ứng dụng công nghiệp và ô tô, chẳng hạn như cảm biến khoảng cách, cảm biến vị trí, cảm biến độ ẩm, và cảm biến áp lực [1].

1.5.1. Cảm biến tiệm cận (proximity sensor)

Một bộ cảm biến tiệm cận có thể phát hiện sự hiện diện của các đối tượng ở gần đó mà không có bất kỳ liên kết vật lý nào. Một cảm biến khoảng cách phát ra một trường điện từ hoặc điện, và phát hiện bất kỳ thay đổi nào trong trường hoặc tín hiệu phản hồi. Cảm biến tiệm cận loại điện dung bao gồm một bộ dao động có tần số được xác định bởi một mạch LC. Khi một đối tượng tiến đến gần một bản cực, điện dung cảm ứng thay đổi làm thay đổi tần số dao động. Sự thay đổi này được phát hiện và gửi đến các đơn vị điều khiển. Khi khoảng cách giữa cảm biến khoảng cách và đối tượng mục tiêu đủ nhỏ,

điện trường phân bố xung quanh tụ điện sẽ bị thay đổi, và sẽ được phát hiện bởi các đơn vị điều khiển.

Khoảng cách tối đa mà một bộ cảm biến tiệm cận có thể phát hiện, được định nghĩa là '*phạm vi danh nghĩa*'. Một số cảm biến có thể điều chỉnh phạm vi danh nghĩa. Một bộ cảm biến tiệm cận, có phạm vi phát hiện trong khoảng cách rất ngắn thường được sử dụng như một công tắc cảm ứng. Thêm vào đó, chúng có khả năng phát hiện không chỉ vật bằng kim loại mà còn chất điện môi như giấy, thủy tinh, gỗ, nhựa các loại. Chúng thậm chí có thể phát hiện vật qua một bức tường hoặc hộp các tông. Cơ thể con người như một chất dẫn điện với tần số thấp, cảm biến điện dung cũng đã được sử dụng để phát hiện ra sự tiếp xúc của con người (touch sensor). Cảm biến tiệm cận loại điện dung có độ tin cậy cao và tuổi thọ dài, bởi vì chúng không bị bào mòn các bộ phận cơ khí và ít tiếp xúc vật lý giữa cảm biến và đối tượng cảm nhận.

Các ứng dụng của cảm biến điện dung là:

+ Đo khoảng cách: Nếu một vật kim loại tiến gần đến một điện cực của tụ điện, sẽ làm thay đổi điện dung cảm ứng, điện dung cảm ứng rất nhạy đối với khoảng cách.

+ Đo độ dày: Một cách điện sẽ được đo độ dày nếu hằng số điện môi của chất cách điện được biết, hoặc hằng số điện môi nếu độ dày được biết, khi đặt vật cách điện vào giữa hai bản cực.

+ Đo áp lực: Một cơ màng với tính lệch ổn định có thể đo áp lực với một máy dò khoảng cách.

1.5.2. Cảm biến vị trí (position sensor)

Một cảm biến vị trí là một thiết bị cho phép thực hiện các phép đo vị trí và sự dịch chuyển. Vị trí có thể là vị trí tuyệt đối hoặc tương đối [38]. Vị trí góc cũng có thể được đo bằng cảm biến vị trí. Cảm biến vị trí được sử dụng trong nhiều ứng dụng công nghiệp như đo mực chất lỏng, đo góc trục, mã hóa kỹ thuật số, hệ thống điều phối màn hình cảm ứng. Chiết áp loại điện trở đã được sử dụng để xác định vị trí quay và vị trí tuyến tính. Tuy nhiên, hạn chế của các cảm biến loại này là cấu tạo cơ khí khiến cho chúng bị mài mòn do đó thiếu đi sự chính xác. Điều này đã làm cho các cảm biến điện trở, trở nên kém hấp dẫn đối với các ứng dụng trong công nghiệp. Cảm biến vị trí loại điện dung thường không có thiết bị cơ khí để xác định vị trí, mà dựa trên các thông số vật lý của các tụ điện. Đo vị trí sử dụng một cảm biến vị trí loại điện dung có thể được thực hiện bằng cách thay đổi một trong ba thông số điện dung: diện tích của các bản cực, hằng số điện môi, và khoảng cách giữa các bản cực. Các ứng dụng sau đây là một số ví dụ về việc sử dụng các cảm biến vị trí loại điện dung:

+ Cảm biến mực chất lỏng: Cảm biến mực chất lỏng loại điện dung đo mực chất lỏng trong bể chứa bằng việc đo sự thay đổi điện dung giữa hai bản cực tụ được ngâm trong chất lỏng hoặc đặt bên ngoài bồn chứa.

+ Cảm biến góc trục hoặc vị trí tuyến tính: Cảm biến điện dung có thể đo đạc góc hoặc vị trí với một thiết kế gồm nhiều bản cực cho ra độ chính xác cao với đầu ra số hoặc đầu ra tương tự nhưng có độ chính xác khá cao, đáp ứng nhanh và mạch điện đơn giản.

+ X-Y tablet: Cảm biến điện dung được sử dụng để phát hiện vị trí của tay người trên màn hình của máy tính bảng hay điện thoại. Màn hình cảm ứng đang xuất hiện ngày càng phổ biến và đóng một vai trò quan trọng trong cách con người tương tác với máy tính.

+ Đo lưu lượng: Chuyển đổi lưu lượng thành áp suất hoặc độ dịch chuyển, sử dụng một lỗ nhỏ để cho dòng chảy qua hoặc áp dụng hiệu ứng Coriolis tác dụng lên một vật trong dòng chảy. Cảm biến điện dung có thể đo được sự dịch chuyển này.

1.5.3. Cảm biến độ ẩm (humidity sensor)

Hằng số điện môi của không khí hoặc một số chất bị ảnh hưởng bởi độ ẩm. Khi độ ẩm tăng dẫn đến tăng cách điện. Hằng số điện môi của không khí trong khí quyển, của một số chất khí, và nhiều vật liệu rắn biến đổi theo hàm lượng độ ẩm và nhiệt độ. Thiết bị đo độ ẩm loại điện dung dựa trên những thay đổi trong hằng số điện môi của các vật liệu cách điện giữa hai bản cực. Cảm biến độ ẩm thường bao gồm nhiều lớp ô xít vô cơ ưa nước được dùng làm chất điện môi. Sự hấp thụ các phân tử nước phân cực có tác động mạnh vào hằng số điện môi của vật liệu điện môi. Độ lớn của hiệu ứng này tăng theo điện tích bề mặt có thể hấp thụ nước.

1.5.4. Cảm biến áp suất (pressure sensor)

Một cảm biến áp lực đo áp suất, thường của chất khí hoặc chất lỏng. Áp lực là một lực cần thiết để ngăn chặn một chất lỏng/khí mở rộng, và thường có đơn vị là lực trên một đơn vị diện tích. Một cảm biến áp suất thường đóng vai trò như một bộ chuyển đổi. Nó tạo ra một tín hiệu tương ứng với áp lực đặt vào. Chuyển đổi giá trị áp suất/áp lực thành tín hiệu điện. Cảm biến áp suất điện dung đang dần thay cảm biến áp suất loại piezoresistive vì chúng yêu cầu công suất thấp hơn, phụ thuộc nhiệt độ ít hơn, và độ trôi thấp hơn.

Cảm biến áp suất có thể được phân loại dựa trên các dải áp suất đo lường, phạm vi nhiệt độ hoạt động, và quan trọng nhất là các loại áp suất đo. Cảm biến áp suất khác nhau được đặt tên theo mục đích của cảm biến như:

+ Cảm biến áp suất tuyệt đối: đo áp suất tương đối so với chân không tuyệt đối.

- + Cảm biến áp suất Gauge: đo áp suất tương đối so với áp suất khí quyển.
- + Cảm biến áp suất chân không: đo đặc áp suất nhỏ hơn áp suất không khí.
- + Cảm biến áp suất vi sai: đo đặc sự khác biệt giữa hai áp lực kết nối với mỗi bên của cảm biến. Cảm biến áp suất vi sai được sử dụng để đo nhiều tính chất, chẳng hạn như áp giảm khi đi qua các bộ lọc dầu hoặc bộ lọc không khí, nồng độ chất lỏng (bằng cách so sánh các áp lực trên và dưới chất lỏng).
- + Cảm biến áp suất kín: Cảm biến áp suất đo áp lực liên quan đến một số áp lực nhất định chứ không phải là áp suất khí quyển xung quanh (áp suất khí quyển thay đổi tùy theo vị trí và thời tiết).

1.5.5. Cảm biến góc nghiêng (tilt sensors)

Trong những năm gần đây, bộ đo gia tốc điện dung đang được sử dụng ngày càng phổ biến. Những bộ đo gia tốc sử dụng một bản cực có khối lượng tương đối làm một bản cực của tụ điện và sử dụng bản cực còn lại làm cơ sở tham chiếu. Khi cảm biến được tăng tốc, bản cực có khối lượng có xu hướng di chuyển; do đó, điện áp thay đổi trên tụ điện. Thay đổi điện áp này tương ứng với gia tốc.

Cảm biến gia tốc loại điện dung có trọng lượng nhẹ, có dải tần số từ 0-1000 Hz, và phạm vi hoạt động của gia tốc là $\pm 2g$ đến $\pm 500g$. Analogue Devices, Inc đã giới thiệu mạch gia tốc tích hợp với độ nhạy lên tới 1,5g. Với độ nhạy này cho phép chế tạo một máy đo độ nghiêng.

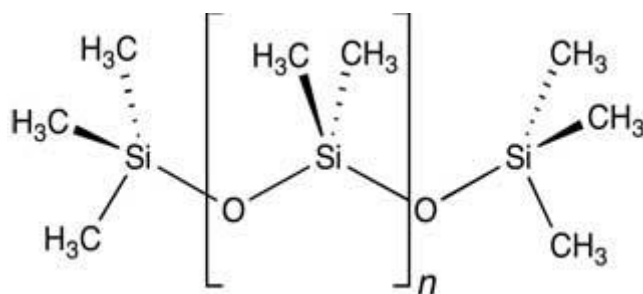
CHƯƠNG 2: KÊNH VI LÔNG TÍCH HỢP CẢM BIẾN ĐIỆN DUNG

Trong chương trước, tổng quan về cảm biến điện dung và một số ứng dụng của cảm biến điện dung đã được trình bày. Trong chương này, cấu trúc kênh vi lông có tích hợp cảm biến điện dung đồng phẳng, hoạt động dựa trên sự thay đổi hằng số điện môi hiệu dụng trong môi trường giữa hai bản cực tụ sẽ được giới thiệu. Trước tiên, vật liệu tạo kênh vi lông có tính tương thích sinh học cao Polydimethylsiloxan (PDMS) sẽ được đề cập, cùng với phương pháp chế tạo kênh vi lông sử dụng vật liệu này. Tiếp đó cấu trúc và nguyên lý hoạt động của cảm biến điện dung đồng phẳng sẽ được trình bày chi tiết.

2.1. Vật liệu tương thích sinh học PDMS

Polydimethylsiloxan (PDMS) là một nhóm các hợp chất cao phân tử organosilicon thường được gọi là silicon. PDMS được sử dụng rộng rãi nhất là polymer silicon hữu cơ (cao su silicon), và đặc biệt được biết đến với tính chất lưu biến¹ (hay dòng chảy không bình thường) của nó. PDMS trong suốt, trơ, không độc hại, và không cháy. Nó cũng được gọi là dimethicone và là một trong nhiều loại dầu silicone (polime siloxane). Ứng dụng của nó được áp dụng từ chế tạo kính áp tròng và các thiết bị y tế cho tới các chất đàn hồi; nó cũng có mặt trong dầu gội (dimethicone làm cho tóc sáng bóng và trơn), thực phẩm (chất chống tạo bọt), hàn, chất bôi trơn, cát động, và gạch chịu nhiệt.

¹ Lưu biến: là tính chất dòng chảy của vật chất (chất lỏng nhưng cũng có thể là các chất rắn mềm hoặc chất rắn trong điều kiện chúng bị chảy hơn là biến dạng đàn hồi). Lưu biến học là ngành nghiên cứu chủ yếu về hành vi và tính chất dòng chảy của vật liệu.



Hình 2.1: Cấu tạo phân tử của Polydimethylsiloxane (PDMS)

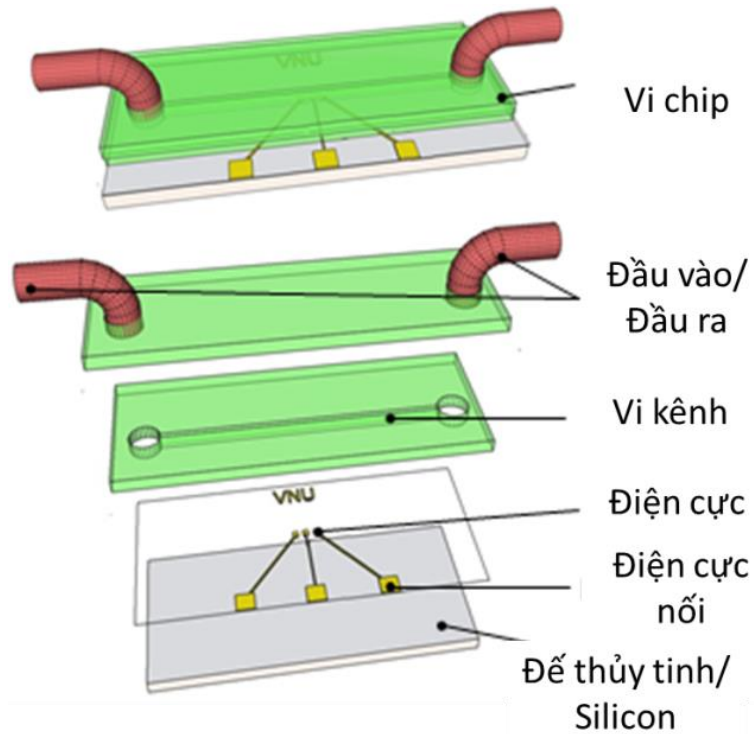
Vật liệu PDMS có tính tương thích sinh học cao được sử dụng rộng rãi làm kênh dẫn vi lỏng trong các thiết bị sinh học, dùng trong ngành phẫu thuật thẩm mỹ...

Để tạo bản mẫu kênh vi lỏng một cách nhanh chóng sử dụng vật liệu PDMS, việc tạo khuôn polydimethylsiloxan (PDMS(C₂H₆OSi)_n) bởi phương pháp silicon hoặc phương pháp kim loại đồng nhất có thể được áp dụng. PDMS có tính chất linh hoạt, kỵ nước và có thể được hàn rất chặt dưới một áp lực đồng nhất. PDMS có khả năng hàn gắn các bề mặt nhẵn khác nhau, bao gồm kính, silicon, silicon nitride, polyethylene, carbon thủy tinh, polystyrene oxy hóa, fluorocarbon và kim loại. Kể từ khi in thạch bản mềm có thể sử dụng để tạo mẫu nhanh, PDMS thường được dùng trong khắc thạch bản như một vật liệu để tạo khuôn cho phác thảo các kênh có kích thước micro trên một đế nhẵn. So với kính, PDMS có tính dẫn nhiệt thấp, kỵ nước cao hơn nhiều, và các đặc tính này là các điều kiện đủ để PDMS trở thành một loại vật liệu phù hợp để làm kênh vi lỏng. Mặt khác, PDMS bị phồng lên bởi nhiều loại dung môi hữu cơ như các loại dầu, nhưng vẫn không bị ảnh hưởng bởi nước, nitromethane, ethylene glycol, acetonitrile, perfluorotributylamine, perfluorodecalin và propylene carbonate. Hơn nữa, PDMS còn được biết đến với khả năng hấp thụ các phân tử ưa mỡ nhỏ. PDMS có thể được tăng cường bằng lớp phủ bề mặt PDMS với natri silicat để chống lại các dung môi hữu cơ. Tuy nhiên, do PDMS có tính mềm dẻo và có thể uốn được, nên điện cực có thể không được tạo khuôn mẫu trên đó.

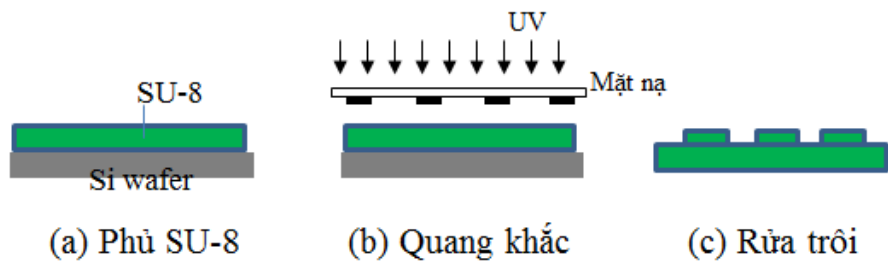
PDMS trong suốt, do đó có thể dễ dàng quan sát bên trong kênh dẫn từ bên ngoài vì thế vật liệu này rất thích hợp để sử dụng làm kênh dẫn.

2.2. Kênh vi lỏng

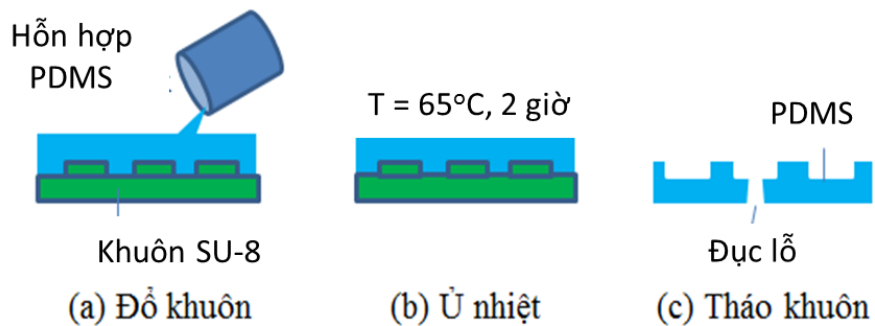
Các chip vi lỏng tích hợp cảm biến được chế tạo bằng công nghệ vi chế tạo. Chip vi lỏng tích hợp cảm biến trở kháng và aptamer hoàn chỉnh được tạo thành bởi quy trình hàn gắn hai nửa: nửa trên là vật liệu PDMS để tạo thành các cấu trúc kênh dẫn, và nửa dưới là đế thủy tinh hoặc silicon với điện cực (Hình 2.2). Cấu trúc kênh dẫn trên PDMS được tạo từ khuôn SU-8 với quy trình quang khắc và tạo mẫu (Hình 2.3, Hình 2.4). Các cấu trúc cảm biến trở kháng cũng như hệ thống các dây dẫn và điện cực được chế tạo thông qua các quy trình lithography và lift-off (Hình 2.5). Quy trình hàn gắn chip độ chính xác cao tạo vi kênh dẫn được trình bày trên Hình 2.6.



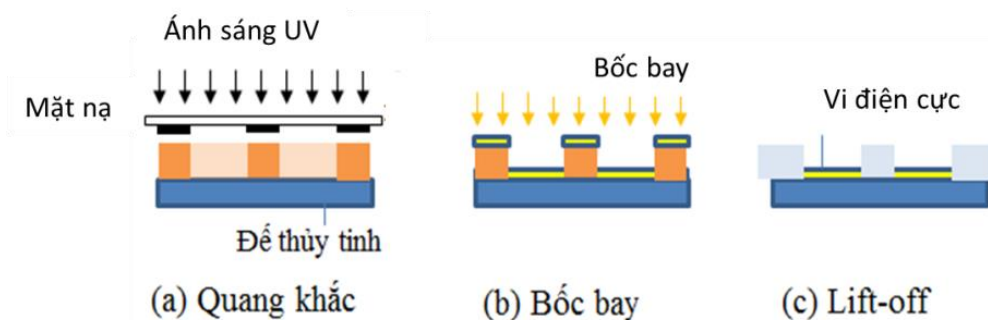
Hình 2.2 Cấu trúc cảm biến trở kháng phát hiện tế bào



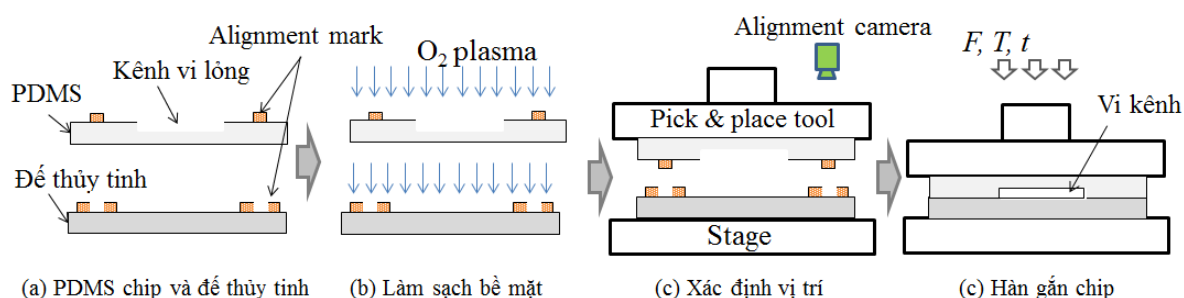
Hình 2.3: Quy trình chế tạo khuôn bằng vật liệu SU-8



Hình 2.4: Quy trình chế tạo chip PDMS từ khuôn SU-8



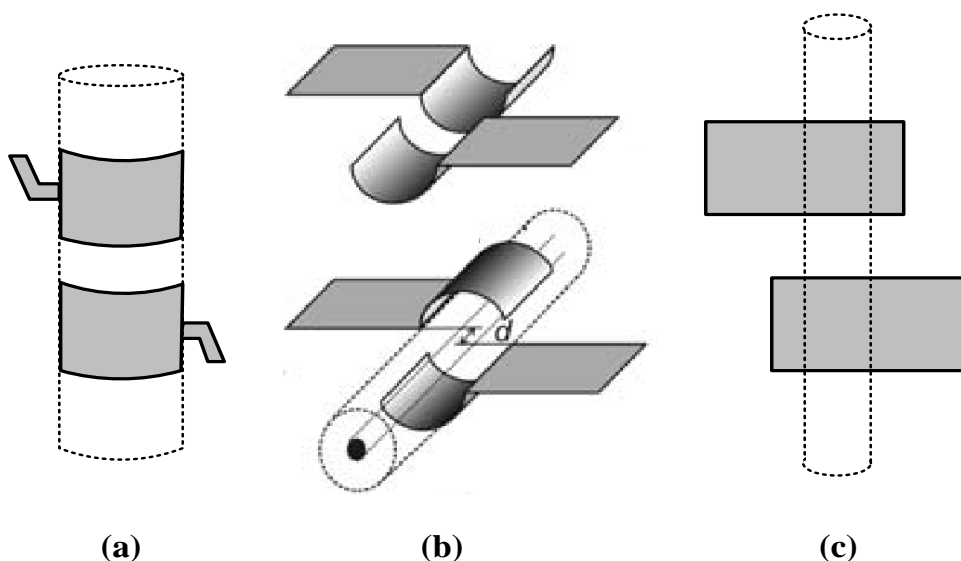
Hình 2.5: Quy trình chế tạo đế thủy tinh tích hợp cảm biến dung kháng



Hình 2.6 Quy trình hàn gắn chip độ chính xác cao tạo vi kênh dẫn.

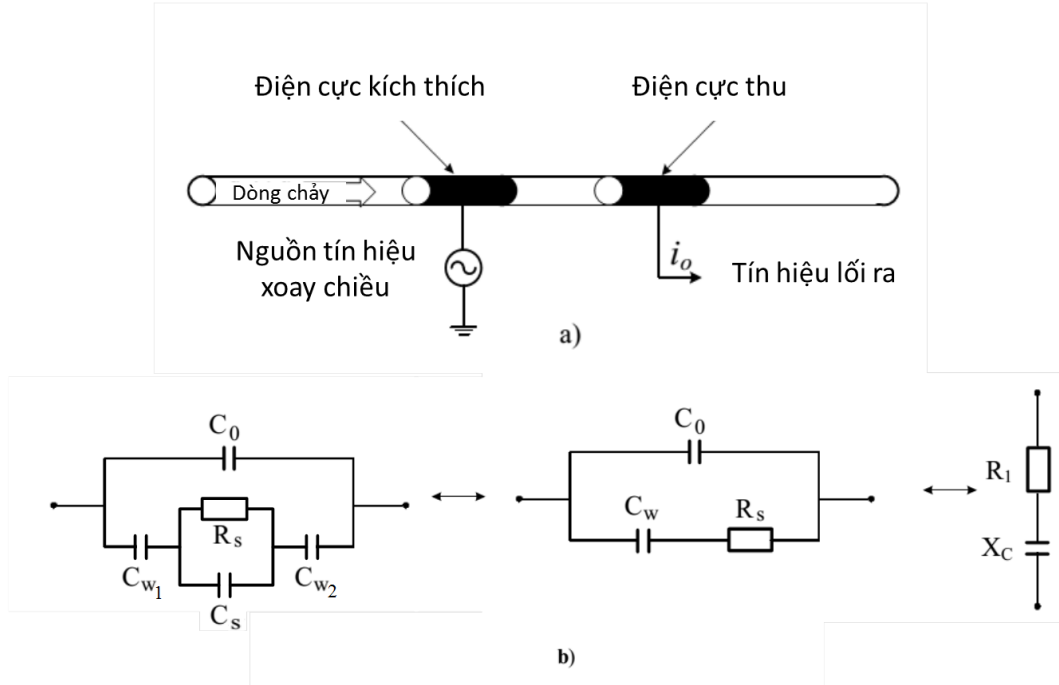
2.3. Cấu trúc cảm biến điện dung đồng phẳng

Ngày nay, C^4D là hướng nghiên cứu chính và được ứng dụng trong các nghiên cứu ngành bioMEMS để phát hiện hàm lượng/độ dẫn trong các kênh lỏng hay trong các mao mạch [26]. Các điện cực hình ống và bán ống (Hình 2.7a,b) thường được sử dụng trong các ứng dụng có dòng chảy qua và các mao mạch điện. Hình học đồng phẳng được áp dụng trong các hệ thống vi lỏng, chip điện, hoặc các hệ lab-on-chip.



Hình 2.7 Thiết kế C^4D [24].

Hình 2.8.(a) minh họa thiết kế của một cảm biến vi lỏng C⁴D bao gồm hai điện cực. Một tín hiệu sin được đặt vào điện cực bên trái tạo thành điện cực kích thích (điện cực phát) và cảm biến là điện cực còn lại, gọi là điện cực thu. Chất liệu tạo nên kênh dẫn được coi như tạo thành hai tụ điện (C_{w1} , C_{w2}).



Hình 2.8: Thiết kế của một cấu trúc C⁴D đơn: (a) Điện cực kích thích và điện cực thu nhận; (b) mạch điện tương đương.

Mạch điện tương đương của cấu trúc C⁴D được thể hiện trên hình Hình 2.8.(b). Điện trở của dung dịch khảo sát bên trong kênh là R_s và điện dung của dung dịch là C_s . Trị số điện dung các tụ C_{w1} , C_{w2} phụ thuộc vào độ dày và hằng số điện môi của lớp điện môi tạo nên thành kênh và kích thước của các điện cực. Ngoài ra, Hai điện cực cũng tạo thành một điện dung C_0 dọc theo kênh thể lỏng. Các hiệu ứng không mong muốn của việc tồn tại điện dung ký sinh có thể được loại bỏ bằng cách đưa vào một lồng Faraday nối đất [12, 24-26] hoặc đặt một tấm vật liệu dẫn điện giữa các điện cực [3, 12].

Trở kháng của mạch điện tương đương được tính toán theo công thức (2.1):

$$Z = \frac{Z_1 \cdot Z_2}{Z_1 + Z_2} \quad (2.1)$$

Trong đó, $Z_1 = \frac{R_s \cdot (1/j\omega C_s)}{R_s + 1/j\omega C_s} + \frac{1}{j\omega C_{w1}} + \frac{1}{j\omega C_{w2}}$ là trở kháng của mạch điện chính, và

$Z_2 = \frac{1}{j\omega C_0}$ trở kháng của tụ điện C_0 .

Cảm biến hoạt động để phát hiện sự thay đổi độ dẫn điện, vật liệu trong vùng cảm biến. Hiệu ứng của điện dung dịch có thể được bỏ qua, và C_{w1} , C_{w2} có thể được rút gọn đơn giản thành C_w . Tổng trở, Z , được xác định bởi phương trình (2.2):

$$Z = R_1 + jX_C = \frac{R_s C_w^2 \omega^2 - j[\omega(C_w + C_0) + R_s^2 C_w^2 C_0 \omega^3]}{(R_s C_w C_0 \omega^2)^2 + [\omega(C_w + C_0)]^2} \quad (2.2)$$

Trong đó R_1 và X_C là những thành phần thực và ảo của trở kháng của C⁴D, R_s là điện trở dung dịch, $\omega = 2\pi f$ là tần số góc, với f là tần số tín hiệu xoay chiều sin đưa vào cảm biến, và $j = \sqrt{-1}$ là thành phần ảo.

Khi một điện áp xoay chiều được đặt vào một bộ cảm biến C⁴D, dòng điện tỷ lệ thuận với độ điện dẫn $|Y|$, được biểu diễn bằng công thức (2.3):

$$|Y| = \frac{1}{\sqrt{R_1^2 + X_C^2}} = \sqrt{\frac{(C_0 + C_w)^2 \omega^2 C_s^2 + C_0^2 C_w^2 \omega^4 G_s^2}{G_s^2 + G_w^2 \omega^2}} \quad (2.3)$$

Trong đó, $G_s = 1/R_s$ là $G_s = 1/R_s$ độ dẫn dung của dịch. Khi độ dẫn của dung dịch cao, $G_s \gg C_w \omega$, phương trình (2.3) có thể được rút gọn thành:

$$|Y| = \frac{1}{\sqrt{R_1^2 + X_C^2}} \approx (C_0 + C_w) \omega \quad (2.4)$$

G_s có thể được bỏ qua trong trường hợp này. Do đó, phương trình (2.4) cho thấy giá trị $|Y|$ phụ thuộc chính vào điện dung C_0 và C_w ở một giá trị tần số xác định. Để tăng độ nhạy của phép đo, giá trị của điện trở R_s và điện dung C_{w1} , C_{w2} phải tương quan với nhau. Điều này có thể được thực hiện bằng cách tăng R_s hoặc giảm Z_{C_w} . Tuy nhiên, trong dung dịch có độ dẫn điện cao, R_s thường thấp và khó có thể tăng. Do đó, cần phải giảm Z_{C_w} bằng cách tăng khoảng cách giữa hai điện cực trở, hoặc tăng chiều dài của mỗi điện cực.

2.4. Vi cảm biến điện dung đồng phẳng

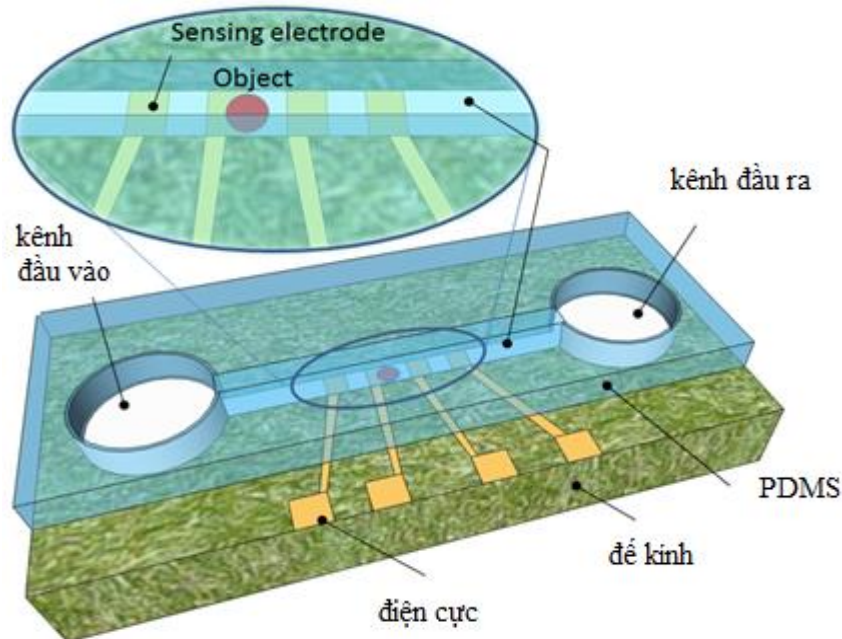
Các cảm biến điện dung thông thường làm việc thường dựa vào sự thay đổi các tham số trong cấu trúc tụ, dẫn đến việc thay đổi điện dung của tụ điện. Có nhiều cấu trúc cảm biến điện dung phát triển dựa trên hai cấu trúc điện cực song song. Trong vi chế tạo, cấu trúc cảm biến điện dung chủ yếu là cấu trúc đồng phẳng do giới hạn và giá thành của quy trình vi chế tạo. Điện dung của tụ có hai bản cực song song, đồng phẳng dẫn

điện cách nhau bởi một khoảng cách $2a$ được đặt trong một môi trường điện môi đồng nhất có hằng số điện môi ϵ_r là:

$$C = \frac{2\epsilon_0\epsilon_r}{\pi} \ln \left[\left(1 + \frac{w}{a}\right) + \sqrt{\left(1 + \frac{w}{a}\right)^2 - 1} \right] \quad (2.5)$$

Với ϵ_0 là hằng số điện môi chân không, l và w là chiều dài và chiều rộng của các cặp điện cực tương ứng. Hầu hết các cảm biến điện dung chất lỏng dựa trên cơ chế: phát hiện sự thay đổi của điện dung gây ra bởi sự thay đổi của hằng số điện môi và tính dẫn điện của vật liệu giữa các điện cực. Việc thay đổi các thông số vật liệu này có thể được gây ra bởi một sự thay đổi trong kênh vi lỏng. Điện môi khác nhau cho mỗi chất liệu hoặc các chất lỏng khác nhau. Do đó, sự thay đổi vật liệu bên trong kênh có thể dẫn đến sự thay đổi của điện dung của cảm biến và một đối tượng bên trong một dòng chảy của dung dịch đồng nhất có thể được phát hiện.

Các điện cực cảm biến này thường được chế tạo trên cùng một chip và trên một kênh vi lỏng như trong Hình 2.9.



Hình 2.9: Cấu tạo của một cảm biến điện dung vi lỏng [29].

Một loạt các cảm biến điện dung đã được nghiên cứu, phát triển và chế tạo cho nhiều ứng dụng sinh học và hóa học, bao gồm phát hiện DNA, phát hiện kháng thể - kháng nguyên, giám sát tế bào, phát hiện dung môi hữu cơ, theo dõi tăng trưởng vi khuẩn và phát hiện lớp polyelectrolyte siêu mỏng và phát hiện các cấu tạo protein, khí hóa chất độc hại.

CHƯƠNG 3: THAO TÁC TẬP TRUNG TẾ BÀO SỬ DỤNG HIỆU ỨNG ĐIỆN ĐIỆN MÔI

Để đưa tế bào đích, trong trường hợp này là tế bào A549, vào vùng hoạt động tích cực của cảm biến, hiệu ứng điện di điện môi (dielectrophoresis - DEP) đã được nghiên cứu và áp dụng. Trong chương này, cơ sở lý thuyết cũng như áp dụng hiệu ứng này trong thao tác điều khiển tập chung tế bào sống sẽ được trình bày chi tiết.

3.1. Giới thiệu hiệu ứng DEP

Thuật ngữ dielectrophoresis (DEP), lần đầu tiên được đưa ra bởi Pohl [22], dịch từ tiếng Hy Lạp là *phorein*, là hiệu ứng mà một hạt được dịch chuyển đi, do kết quả bởi các tính chất điện môi của nó. Pohl định nghĩa hiệu ứng này là "sự chuyển động của các hạt lơ lửng trong môi chất, do lực phân cực tạo ra bởi một điện trường không đều." Hiệu ứng này thực tế đã được biết đến với người Hy Lạp và La Mã cổ đại. Theo Mottelay [23], Thales của Miletus đã mô tả hiệu ứng này từ khoảng 600 năm trước Công nguyên, trong khi cọ xát mạnh miếng hổ phách, khiến nó có thể hút được rơm rạ, lá khô, và các vật nhẹ khác tương tự như cách mà một nam châm hút sắt. Quan tâm ban đầu của Pohl trong chủ đề này là hướng tới một ứng dụng công nghiệp và đặc biệt là vấn đề loại bỏ chất độn carbon đen từ mẫu polyvinyl clorua. Sau đó, ông hướng tập trung của mình vào phát triển các phương pháp và lý thuyết cho các đặc tính dielectrophoretic. Tiếp theo là sử dụng trong chia tách các tế bào sinh học và vi khuẩn. Phải mất thời gian dài thì thuật ngữ "dielectrophoresis" mới được công nhận.

Ngày nay, hiệu ứng này được định nghĩa như sau: "DEP là hiện tượng xuất hiện lực tác dụng vào các hạt điện môi, khi chúng được đặt trong một điện trường không đồng nhất." DEP làm dịch chuyển các hạt phân cực, là kết quả của sự tương tác giữa

điện trường không đều với mo-men lưỡng cực trên nó gây ra. Lực này không đòi hỏi các hạt phải được tích điện. Độ lớn của lực phụ thuộc mạnh vào môi chất, tính chất điện của hạt, hình dạng và kích thước của hạt, cũng như tần số của điện trường. Do đó, với tần số điện trường cụ thể, có thể thao tác các hạt với độ chọn lọc cao. Điều này cho phép ứng dụng trong việc phân tách hạt hoặc định hướng và thao tác với các hạt kích thước nhỏ. Hơn nữa, nghiên cứu về sự thay đổi của lực DEP như một hàm của tần số có thể cho phép làm sáng tỏ tính chất điện của các hạt.

3.2. Lực DEP

Hầu hết các xuất bản về DEP trích dẫn một biểu thức của lực DEP tác dụng lên một vi hạt dạng hình cầu như sau:

$$F_{DEP} = 2\pi r_p^3 \epsilon_m \text{Real}(f_{CM}) \nabla |E_{rms}|^2$$

Trong đó, ϵ_m là hằng số điện môi tuyệt đối ($\epsilon_r \epsilon_o$) của môi trường xung quanh; R là bán kính của hạt; f_{CM} là hệ số Clausius–Mossotti liên quan đến độ phân cực điện của hạt; E là cường độ điện trường (rms); và ∇ biểu diễn cho toán tử gradient.

- Lực DEP bằng không nếu điện trường đều (do $\nabla E = 0$).
- Lực DEP tỷ lệ với bình phương điện thế hoặc cường độ điện trường áp dụng. Sự đảo chiều phân cực không làm đảo chiều lực. Sự phụ thuộc không gian của lực DEP phát sinh bởi các phân tử điện trường.
- Lực DEP tỷ lệ với nghịch đảo lập phương khe điện cực. Khi giảm các kích thước của điện cực đi một lần, kéo theo tăng lực DEP lên 3 lần.
- Lực DEP tỷ lệ với thể tích của hạt. Một điện trường mạnh ($10^4 - 10^5 V/m$) được yêu cầu để thao tác trên các hạt kích thước micro.
- Tùy thuộc vào hằng số điện môi của hạt là lớn hơn hoặc nhỏ hơn so với môi trường xung quanh, sẽ tương ứng với DEP dương hay âm, khi mà hạt được thu hút hoặc đẩy lùi từ một vùng của cường độ điện trường, tương ứng.
- Hình học điện cực là một nhân tố thực nghiệm quan trọng trong việc kiểm soát các yếu tố ($E \cdot \nabla E$), nó có kích cỡ V^2/m^3 . Chế tạo các điện cực có thể cung cấp một trường điện cao chỉ với vài V.

3.3. Ứng dụng DEP

Dielectrophoresis có thể được sử dụng để thao tác, vận chuyển, phân loại và sắp xếp các loại hạt khác nhau.

Trong công nghiệp, ứng dụng nghiên cứu đầu tiên và sớm nhất của DEP đó là tách khoáng chất, phân loại hạt. Ngoài ra, phương pháp lắng đọng một lớp phủ khuôn mẫu của một loại vật liệu cấu trúc nano lên trên chất nền, bao gồm các ứng dụng trực tiếp hoặc xen kẽ các điện trường giữa hai điện cực trong một thời gian nhất định, do đó tạo ra các vật liệu cấu trúc nano trong các giải pháp để di chuyển về phía gần với các điện cực. Hay phương pháp chế tạo các thiết bị kích thước micro hoặc nano, bao gồm các thành phần thiết bị di chuyển lại với nhau trong một môi trường thể lỏng của các lực bao gồm DEP. Hay phương pháp để thu thập DEP hạt kích thước micron (dạng hạt, sợi, lá, hoặc các bộ phận vi điện tử) đối với các khu vực trường cao được tạo ra bởi điện cực dẹt phẳng, hoặc bằng cách điện cực kép như chân song song, vòng, hoặc tấm.

Hiện nay, những cố gắng lớn nhất trong khám phá các ứng dụng của DEP được hướng tới ngành khoa học và công nghệ y sinh. Các nghiên cứu đầu tiên được đưa ra là làm thế nào tế bào phản ứng với lực DEP, và đến mức độ nào, điều này có thể dẫn đến một sự hiểu biết tốt hơn về tính chất hóa lý của nó. Hiện nay, các nỗ lực được trực tiếp hướng tới áp dụng đó là phân loại tế bào, công nghệ mô, và cảm biến sinh học.

Phương pháp tách tế bào ung thư từ tế bào khỏe mạnh đã được thực hiện. Tiêu cầu được tách ra từ hồng cầu với máy phân loại tế bào dựa trên hiện tượng DEP. DEP ngày nay đang được áp dụng mạnh mẽ trong các lĩnh vực như:

- Chẩn đoán y tế
- Phát hiện ma túy
- Trị liệu tế bào
- Lọc hạt

DEP đã làm cho nó có thể để mô tả và thao tác các hạt sinh học như tế bào máu, tế bào gốc, tế bào thần kinh, tế bào β , ADN, nhiễm sắc thể, protein và virus. DEP có thể được sử dụng để tách các hạt với độ phân cực khác nhau khi chúng di chuyển theo các hướng khác nhau, ở một tần số nhất định của điện trường AC áp dụng. DEP đã được áp dụng cho việc tách:

- ✓ Các tế bào sống và chết, với các tế bào sống còn lại vẫn sống sau khi phân tách
- ✓ Tế bào ung thư máu
- ✓ Chủng vi khuẩn và vi rút
- ✓ Các tế bào hồng cầu và bạch cầu

DEP cũng có thể được sử dụng để phát hiện ngay sau khi quá trình apoptosis cảm ứng thuốc do sự thay đổi trong đặc tính điện sinh lý.

DEP như một công cụ tế bào đặc trưng

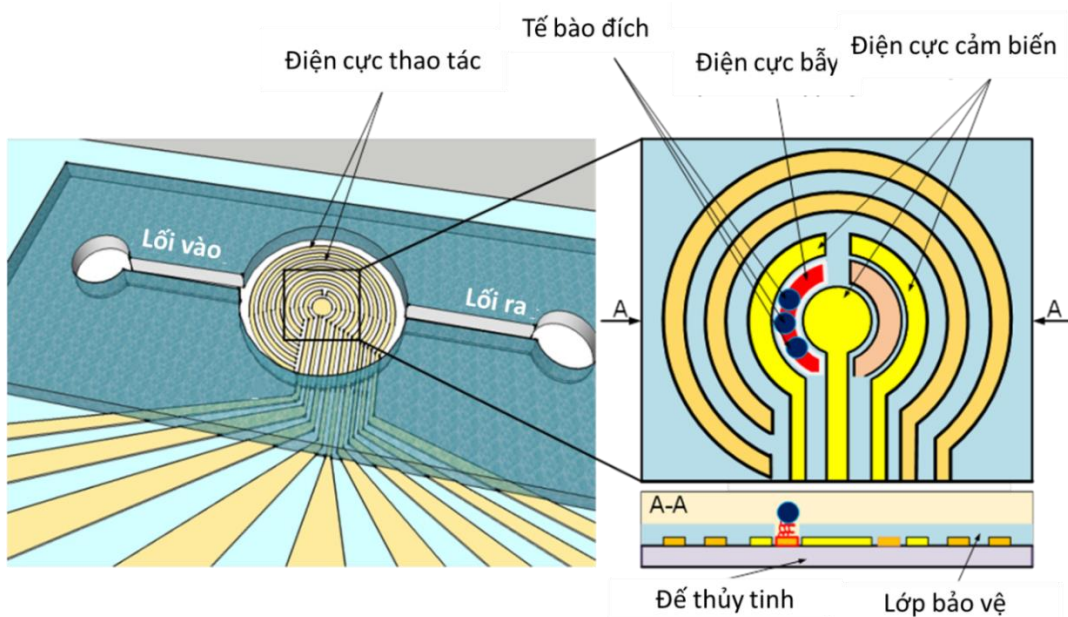
DEP được sử dụng chủ yếu cho các tế bào, đặc trưng do sự thay đổi trong tính chất điện của chúng. Để làm điều này, nhiều kỹ thuật có khả năng định lượng các phản ứng DEP, như hiện nay chúng có thể trực tiếp đo lực DEP. Những kỹ thuật này dựa vào các biện pháp gián tiếp, có được một phản ứng tỷ lệ thuận với độ lớn và hướng của lực mà cần phải được mở rộng để phổ mô hình. Vì vậy, hầu hết các mô hình chỉ xem xét các yếu tố ảnh hưởng đến hệ số Clausius-Mossotti của một hạt. Các kỹ thuật sử dụng nhiều nhất là:

- ✚ Đo tốc độ thu thập: đây là kỹ thuật đơn giản và sử dụng nhiều nhất. Điện cực bị ngập trong một dung môi với một nồng độ nhất định của các hạt và các hạt sẽ được thu thập tại các điện cực đếm.
- ✚ Đo chéo: tần số giao nhau giữa DEP dương và âm được đo để mô tả các hạt. Kỹ thuật này được sử dụng cho các hạt nhỏ hơn (ví dụ như virus), mà khó có thể đếm với kỹ thuật nêu trên.
- ✚ Đo vận tốc hạt: Kỹ thuật này đo tốc độ và hướng của các hạt trong một gradient điện trường.
- ✚ Đo chiều cao bay lên: chiều cao bay lên của một hạt là tỷ lệ thuận với lực DEP âm được áp dụng. Vì vậy, kỹ thuật này là tốt cho việc mô tả các hạt đơn lẻ và được sử dụng chủ yếu cho các hạt lớn hơn như các tế bào.
- ✚ Cảm biến trở kháng: hạt thu thập ở mép điện cực có ảnh hưởng đến trở kháng của các điện cực. Sự thay đổi này có thể được theo dõi để định lượng DEP.

CHƯƠNG 4: CẢM BIẾN ĐIỆN DUNG VI LỒNG PHÁT HIỆN TẾ BÀO SÓNG A549

Trong những chương trước, cơ sở lý thuyết về cảm biến điện dung vi lỏng, kênh vi lỏng cũng như thao tác điều khiển tập chung tế bào đã được trình bày. Trong chương này, một cấu trúc cảm biến điện dung vi lỏng nhằm mục đích phát hiện tế bào sóng A549 được đề xuất. Các kết quả mô phỏng sử dụng phương pháp phân tích các phần tử hữu hạn (FEM) dùng COMSOL Multiphysics và một số thực nghiệm sử dụng cấu trúc này sẽ được trình bày.

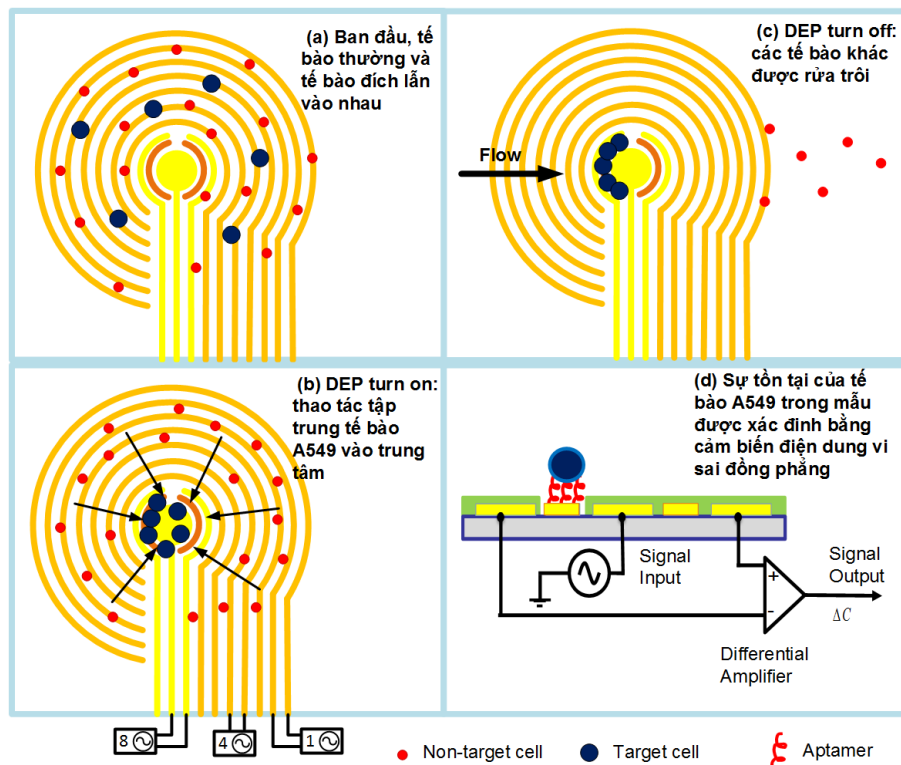
4.1. Cảm biến điện dung vi lỏng



Hình 4.1: Cảm biến điện dung vi lỏng phát hiện tế bào [33].

Sự thay đổi điện dung được phát hiện bằng kỹ thuật đo vi sai với cấu trúc 3 bản tụ trình bày trên hình Hình 4.1. Điện cực trung tâm và 2 điện cực 2 bên tạo thành 2 tụ vi sai có chung cực trung tâm. Khi có đối tượng xuất hiện ở một bên bản tụ, ví dụ như bên trái như trên hình vẽ sẽ gây ra mất đối xứng điện dung giữa 2 cặp tụ điện bên trái và bên phải. Bằng kỹ thuật đo vi sai có thể xác định điện dung thay đổi giữa tụ so sánh (bên phải) và tụ cảm biến (bên trái). Với sự thay đổi nhỏ điện dung trên tụ cảm biến, tín hiệu được khuếch đại lên đến mức có thể đo được. Trong khóa luận này, sự thay đổi điện dung được mô phỏng khi có một số lượng xác định các tế bào ung thư A549 tập trung phía trên điện cực cảm biến. Điện dung vi sai cũng được thiết kế mô phỏng bằng phương pháp các phần tử hữu hạn (finite element method - FEM) sử dụng phần mềm COMSOL Multiphysics.

Việc tập trung tế bào vào vùng cảm nhận của cảm biến được thực hiện bằng phương pháp điện môi điện di (dielectrophoresis - DEP). Hình 4.2 biểu diễn nguyên lý hoạt động của bộ tập trung này [33].



Hình 4.2 Phác thảo của thiết bị vi lỏng cho các thao tác lên tế bào mục tiêu và phát hiện, (a) Tế bào mục tiêu và tế bào không phải mục tiêu được phân bố ngẫu nhiên. (b) Các tế bào được tác động bởi hiệu ứng DEP để di chuyển đến trung tâm. Tế bào mục tiêu bị bắt giữ bởi các aptamer ràng buộc phía trên các điện cực được thiết kế. (c) Tế bào không phải mục tiêu được rửa đi, chỉ còn lại tế bào mục tiêu, được duy trì do kết hợp với các aptamer. (d) Điện dung vi sai được sử dụng để xác định sự hiện diện của các tế bào mục tiêu.

Hình 4.2 cho thấy sơ đồ được mô hình hóa và các tham số thiết kế được đưa ra trong Bảng 4.1. Thiết bị được thiết kế với ba phần chính: đế thủy tinh, điện cực tròn và

lớp bảo vệ. Với bán kính đã cho, thể tích của buồng (microchamber) là khoảng 113 nL. Hệ thống bao gồm mười vi điện cực tròn được đặt cách nhau 30 μm . Các điện cực tạo ra tám cặp thao tác lực điện DEP và các điện cực cảm biến ở trung tâm hình kẹo [9]. Kết hợp các điện cực trung tâm với hai cặp điện cực đối xứng ở hai bên tạo ra một cấu trúc vi sai. Thiết kế với 3 điện cực để hình thành tụ điện cảm biến và các tụ điện tham chiếu, có thể mang lại độ nhạy cao trong việc phát hiện sự xuất hiện của các tế bào mục tiêu trên điện cực bắt.

Bảng 4.1: Các tham số hình học sử dụng cho tính toán mô phỏng [10]

Tham số	Giá trị	Đơn vị
Bán kính buồng	600	μm
Chiều cao buồng	100	μm
Bề rộng điện cực	30	μm
Khoảng cách giữa các điện cực	30	μm
Bán kính điện cực trung tâm	90	μm

Bảng 4.2: Bảng các thông số kích thước và tính chất điện của tế bào hồng cầu (red blood cell - RBC) [18-20] và tế bào ung thư [9-10] sử dụng cho mô phỏng tính toán

Tính chất	Tế bào hồng cầu	A549
Độ dẫn nội (Inner conductivity - S/m)	0.52	0.84
Độ điện thẩm nội (Inner permittivity - ϵ_0)	57	47.5
Inner diameter Đường kính trong (μm)	5	10
Độ dẫn lớp màng (Membrane conductivity - S/m)	10^{-6}	2.5×10^{-7}
Độ điện thẩm lớp màng (Membrane permittivity - ϵ_0)	4.44	6
Bề dày lớp màng (Membrane thickness - nm)	9	8
Mật độ tế bào (cells/mL)	3.25×10^6	2.5×10^5
Hệ số Clausius-Mossotti	0.91	1

4.2. Tế bào A549

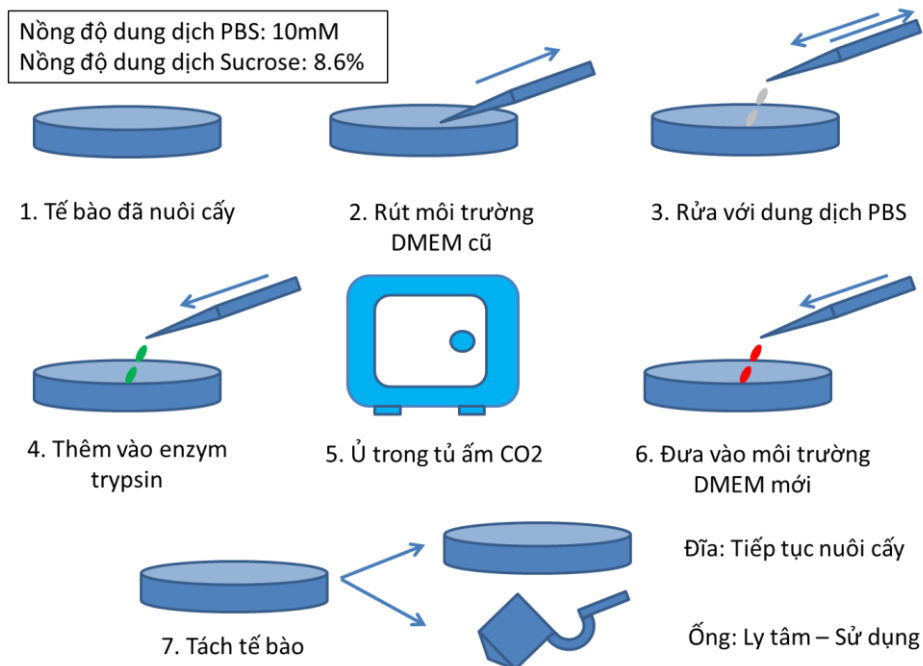
Dòng tế bào ung thư phổi A549 được phát hiện vào năm 1972 bởi D.J. Giard. Các tế bào này có nguồn gốc từ việc nuôi cấy các mô biểu bì tế bào ung thư phổi của một nam bệnh nhân người da trắng 58 tuổi. Dòng tế bào ung thư phế nang biểu mô cơ bản của người đã được sử dụng như một mô hình tế bào biểu mô phổi loại II ví dụ cho sự chuyển hóa thuốc. Các tế bào A549 phát triển thành một đơn lớp, bám dính và có thể được sử dụng như một trạm chuyển nạp.

Tế bào ung thư phổi A549 được lựa chọn làm đối tượng nghiên cứu. Đặc điểm của tế bào ung thư A549 là kích thước phát triển lớn hơn nhiều lần tế bào thường. Tế bào ung thư A549 có kích thước đường kính khoảng 20 μm do đó thuận lợi cho việc quan sát cũng như kiểm tra. Chu kỳ phát triển nhân đôi của A549 là 24 giờ, tức cứ sau 24 giờ thì số lượng tế bào sẽ được nhân lên gấp 2 lần.

Tế bào A549 được bảo quản giữ lạnh ở nhiệt độ -20°C . Để thực hiện thí nghiệm trên tế bào này, cần thực hiện rã đông hoạt hóa và nuôi cấy tế bào.

Quy trình rã đông tế bào

- Làm ấm môi trường nuôi cấy bằng bể ổn nhiệt (MT F12K)
- Nhẹ nhàng hòa đều tế bào đã được rã đông trong môi trường hoàn chỉnh mới (MT F12K, 10% FBS, 1 % kháng sinh)
- Ủ trong tủ CO_2 với điều kiện 37°C và 5% CO_2 .



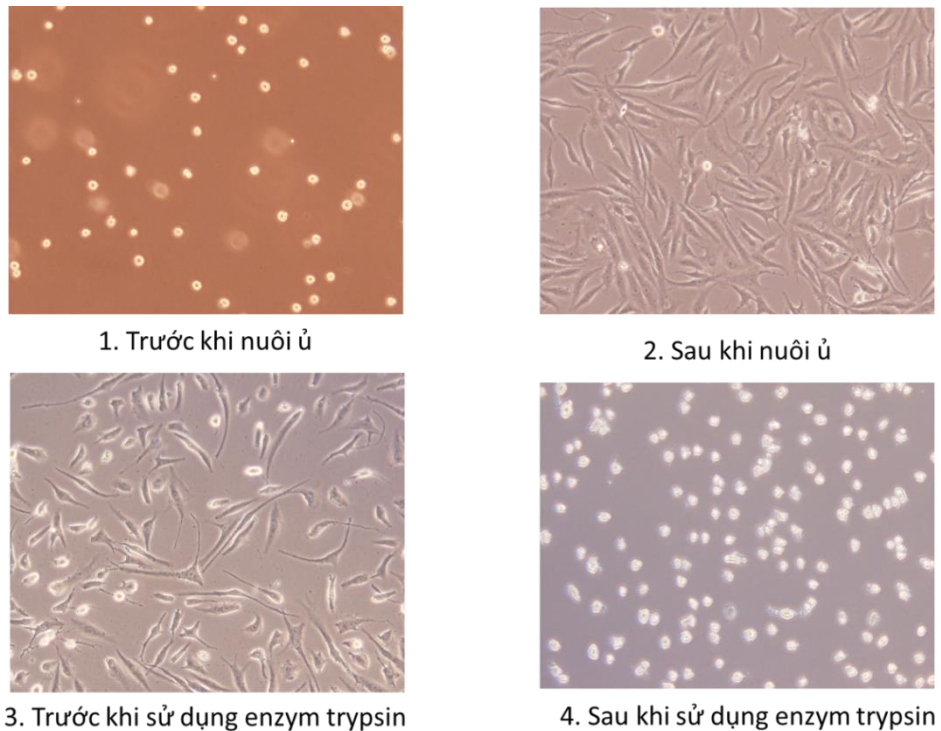
Hình 4.3: Quy trình nuôi cấy tế bào ung thư phổi A549.

Cấy chuyển, dung chai T75

- Làm ấm dung dịch muối đệm PBS, môi trường MT F12K trong bể ổn nhiệt cho tới 37 độ C.
- Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ
- Rửa tế bào với dung dịch muối đệm PBS 1x đã làm ấm hai lần (khoảng 2ml dung dịch cho 10 cm² bề mặt đáy nuôi cấy)
- Nhẹ nhàng thả dung dịch vào thành chai nuôi cấy đối diện với bề mặt có tế bào bám dính để tránh tác động trực tiếp lên tế bào. Lắc nhẹ chai vài lần bằng cách đẩy lên xuống
- Bổ sung 3-5 ml dung dịch Trypsin – EDTA (khoảng 0.5 ml dung dịch cho 10 cm² diện tích bề mặt nuôi cấy) vào thành chai nuôi cấy
- Lắc nhẹ nhàng để dung dịch phân tách tế bào
- Ủ chai nuôi cấy tại nhiệt độ phòng trong khoảng thời gian từ 5-15 phút
- Bổ sung môi trường mới với thể tích gấp 2 lần thể tích dung dịch tách, khoảng 6-10 ml môi trường nuôi cấy MT F12K. Trãi đều môi trường lên bề mặt lớp tế bào vài lần.
- Chuyển toàn bộ dung dịch tế bào sang ống 15ml, ly tâm 550 rpm trong 5-7 phút
- Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ
- Hòa đều tế bào trong môi trường nuôi cấy mới (MT F12K, 10% FBS, 1% kháng sinh)
- Hút một thể tích thích hợp cho vào chai nuôi cấy, ủ 37°C, 5% CO₂.
- Lấy một phần tế bào, nhuộm trypan blue, đếm tỷ lệ sống chết của tế bào.

Bảo quản tế bào:

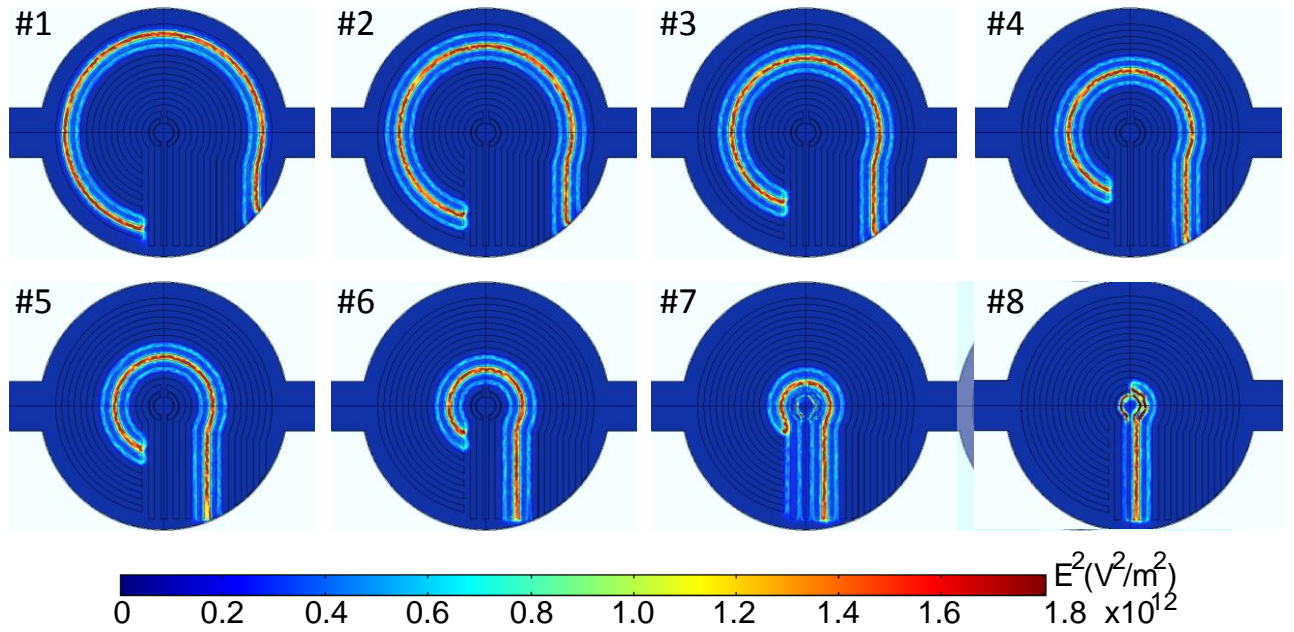
- Bảo quản tế bào cất lạnh trong nitơ lỏng tại nhiệt độ dưới -196° C.
- Chuẩn bị môi trường cất lạnh ở 2-8° C
- Nhẹ nhàng tách tế bào theo quy trình như trên. Sau đó hòa đều tế bào trong môi trường nuôi cấy hoàn chỉnh thích hợp.
- Lấy một lượng nhỏ tế bào: nhuộm trypan blue, xác định tỷ lệ sống chết.
- Ly tâm tốc độ 550 rpm trong 5-10 phút, cẩn thận loại bỏ dung dịch nổi.
- Hòa đều tế bào trong môi trường cất lạnh (MT F12K, 10% FBS, 5-10% DMSO, 1% kháng sinh).
- Chuyển ống giữ tế bào sang nhiệt độ -20°C, -80°C tới -196° C để tế bào thích nghi dần dần.



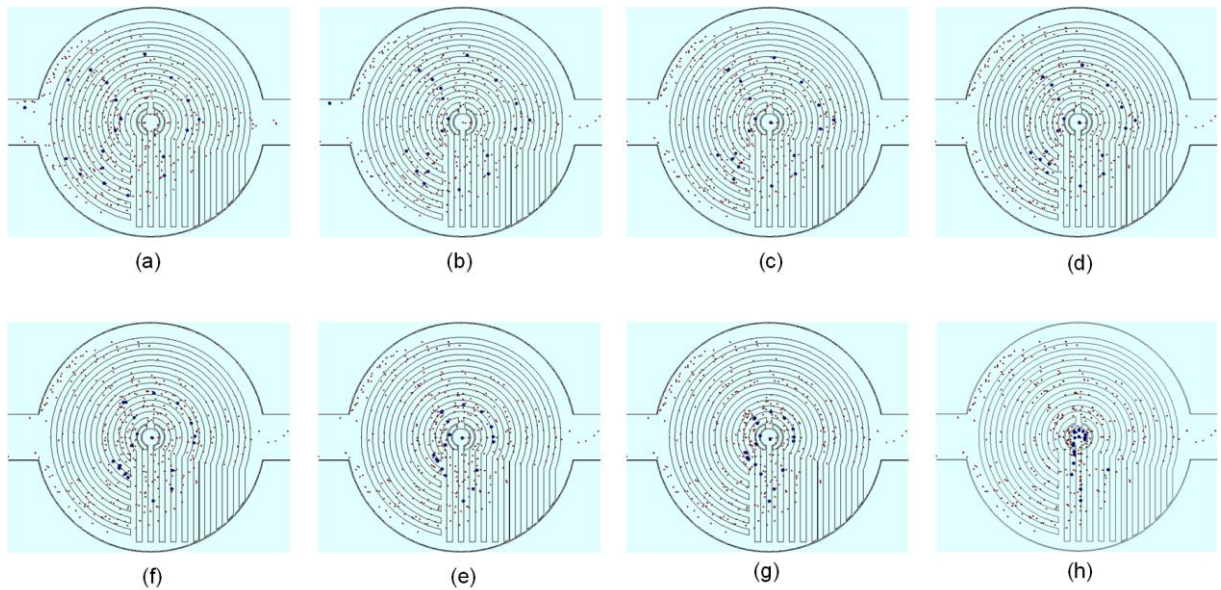
Hình 4.4: Tế bào trước, trong và sau quá trình nuôi cấy phân chia.

4.3. Thiết kế mô phỏng

Một điện trường cao hoặc thời gian tiếp xúc dài với điện trường có thể dẫn đến việc phá vỡ màng tế bào và làm thay đổi tính chất điện và giảm số lượng tế bào sống khi khảo sát. Độ lớn của điện trường cần thiết cho sự ly giải tế bào động vật có vú là khoảng 10^6 V/m và thời gian ít hơn 33ms khi sử dụng một xung dài 1ms. Điện áp AC 16V đỉnh-đỉnh ở tần số 1 MHz đã được sử dụng để đảm bảo sự tồn tại của các tế bào và tạo ra lực DEP đủ mạnh để thao tác tác động lực lên các tế bào. Hình 4.5 cho thấy độ lớn của bình phương điện trường mô phỏng của từng bước điện trường hướng vào phía điện cực cảm biến được đặt ở trung tâm của buồng. Vùng có gradient điện trường cao di chuyển cùng chiều với hướng đặt điện trường bước vào các cực. Ngoài ra, mô hình của các điện cực cũng có thể ảnh hưởng đến kích thước của khu vực này. Hạt, hoặc các tế bào, đặc biệt có đáp ứng điện di điện dịch dương (pDEP), có thể được tập trung lại vào trung tâm bằng cách kết hợp sự thay đổi điện áp, áp dụng trên mỗi cặp điện cực.



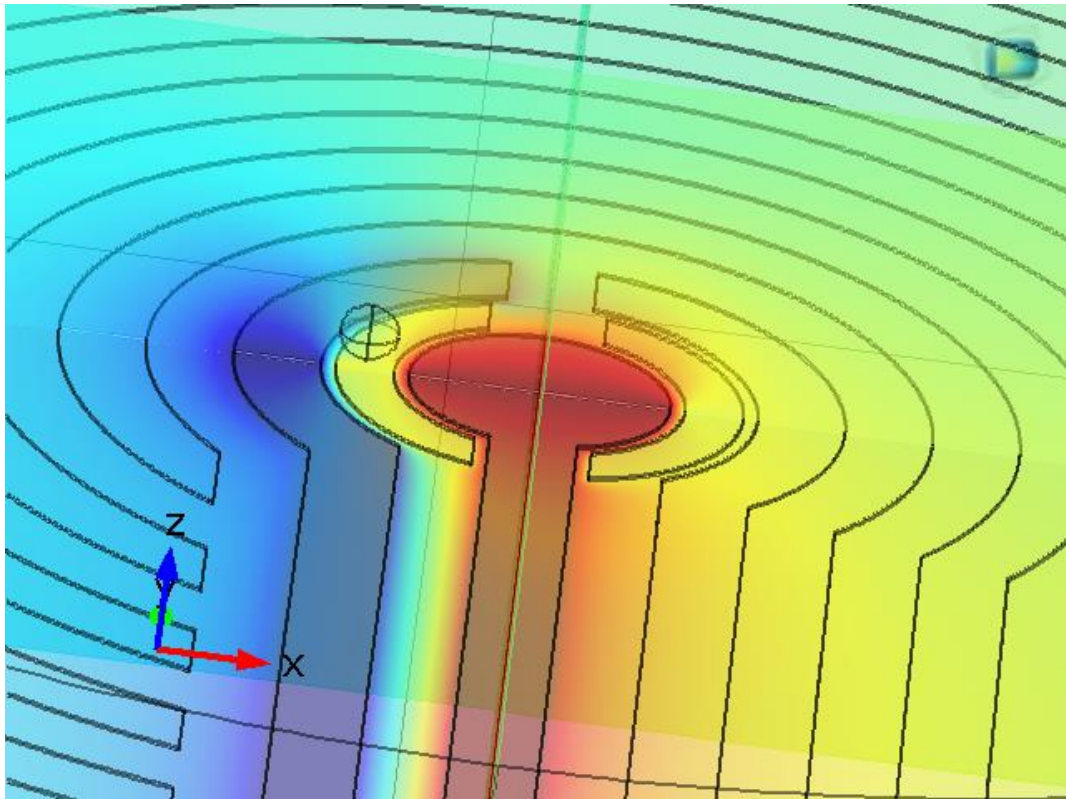
Hình 4.5: Kết quả mô phỏng biểu diễn phân bố điện trường (E^2) trong quá trình tập trung tế bào vào vùng cảm biến. Tín hiệu điều khiển có biên độ đỉnh-đỉnh 16V, tần số 1 MHz.



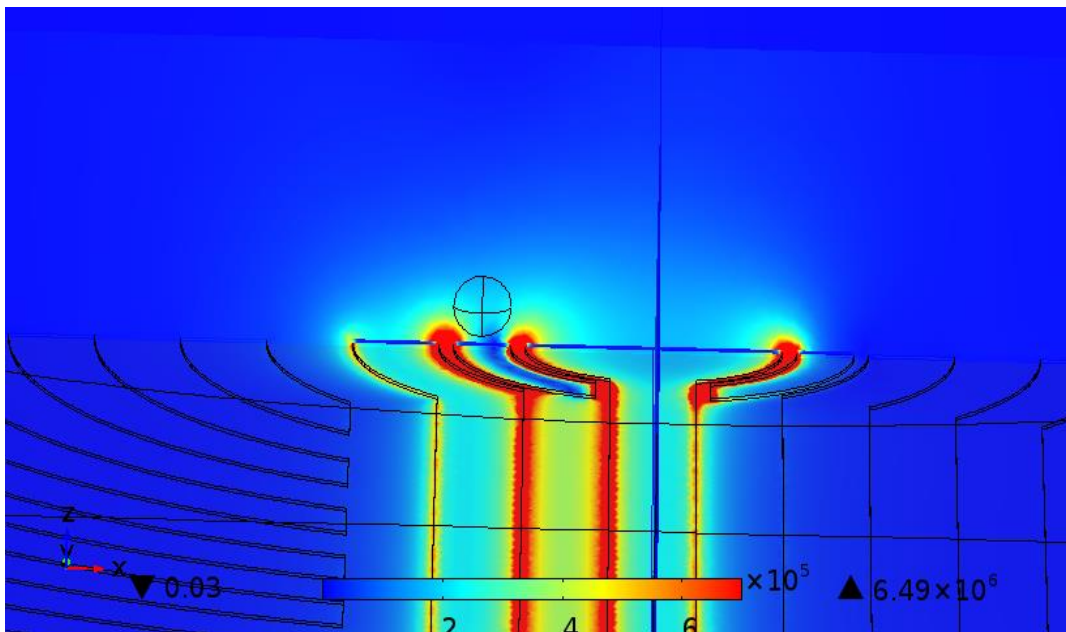
Hình 4.6: Kết quả mô phỏng thực hiện tập trung tế bào vào vùng cảm biến. Tín hiệu điều khiển có biên độ đỉnh-đỉnh 16V, tần số 1 MHz.

Kết quả mô phỏng các thao tác lên các tế bào ung thư từ mẫu máu được thể hiện trong Hình 4.5 và Hình 4.6. Nồng độ của các tế bào ung thư và hồng cầu đưa vào kênh dẫn vi lỏng là $2,5 \times 10^5$ tế bào/ml và $3,25 \times 10^6$ tế bào/ml, tương ứng với tỷ lệ tế bào ung thư/tế bào hồng cầu bằng 1/13. Ban đầu, các tế bào ung thư (tế bào mục tiêu) và các tế bào máu khác (tế bào không phải mục tiêu) được phân phối ngẫu nhiên trên bề mặt. Bằng cách luân phiên đặt điện trường vào các cặp điện cực điều khiển, cả hai dòng tế

bào (tế bào đích và tế bào thường) được tác dụng bởi lực DEP để di chuyển đến khu vực có phân bố điện trường cao. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng các tính chất điện của tế bào ung thư và tế bào thường là khác nhau, do đó với cùng phân bố điện trường, lực tác dụng lên các tế bào này là khác nhau. Bằng cách này có thể tách lọc các tế bào mục tiêu (A549) vì dòng tế bào này có vận tốc cao hơn khi di chuyển đến các điện cực trong cùng do lực DEP mà điện trường tác động lên từng tế bào là cao hơn. Tế bào A549 được hút vào các điện cực trung tâm nhanh hơn là các tế bào hồng cầu khi các cặp điện cực lần lượt được áp dụng điện trường bước, vì thế hoàn toàn khả thi để tập trung các tế bào A549 từ dung dịch hỗn hợp tế bào với một hiệu suất nhất định. Mặc dù vẫn còn một số tế bào không phải tế bào mục tiêu nằm trong vùng điện cực trung tâm, các tế bào A549 thực tế đã được tập trung tại trung tâm của mô hình với mật độ cao ở giai đoạn cuối của quá trình mô phỏng (Hình 4.6(h)), chứng minh nguyên tắc làm việc của thiết bị được đề xuất.

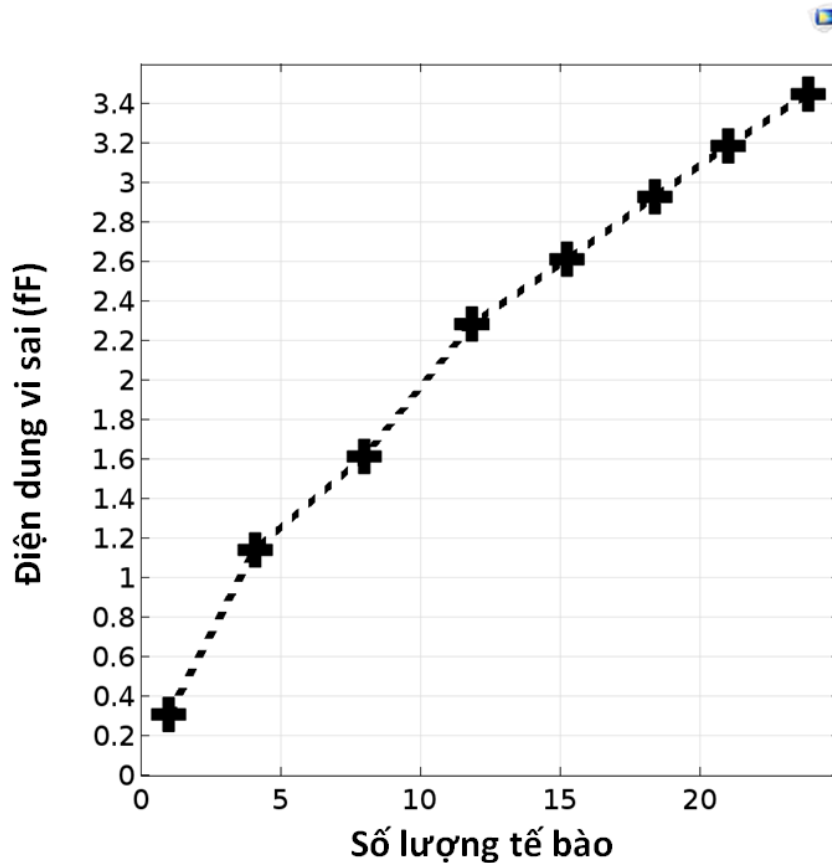


(a)



(b)

Hình 4.7 Phân bố của cường độ điện trường giữa các điện cực cảm biến trái và điện cực trung tâm khi một tế bào A549 duy nhất được đặt tại các điện cực bắt. (a) Nhìn từ trên xuống. (b) Mặt cắt ngang.



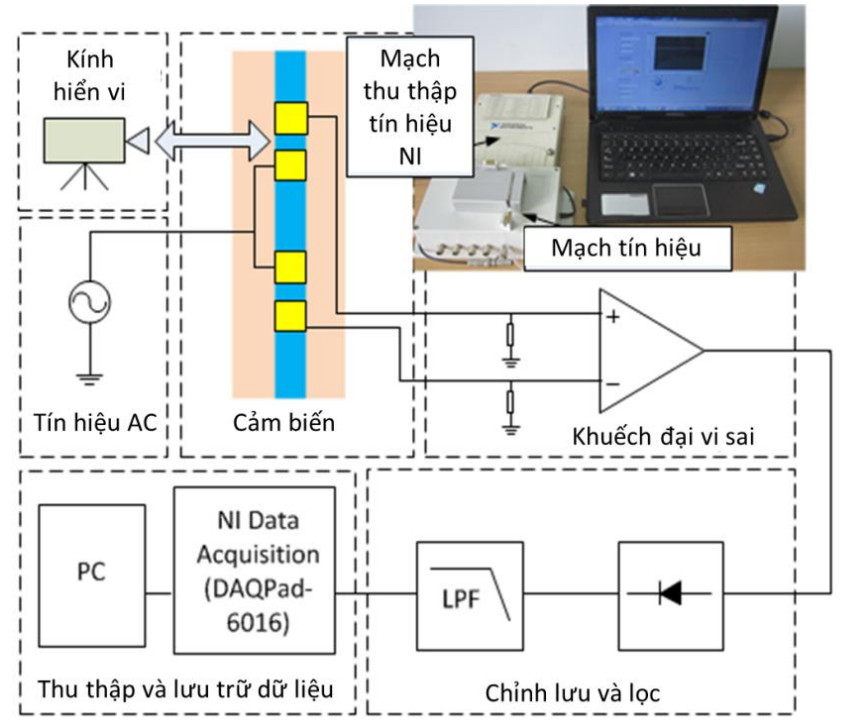
Hình 4.8: Lượng điện dung khác biệt so với số tế bào. Các trục y, trục x là lượng điện dung khác biệt và số lượng của các hạt, tương ứng.

Cảm biến đo đặc sự khác biệt điện dung được cấu thành bởi hai điện cực đối xứng bên cạnh các điện cực trung tâm sẽ đảm nhiệm việc phát hiện tế bào. Từ kết quả mô phỏng Hình 4.8, có thể thấy rằng lượng điện dung khác biệt tương ứng tăng khi số lượng của các hạt tăng. Điện dung tổng thể chủ yếu phụ thuộc vào hằng số điện môi của môi trường giữa hai điện cực của cảm biến điện dung vì thế nồng độ của các hạt được đánh giá bằng độ thay đổi điện dung. Bằng cách sử dụng các yếu tố đánh dấu sinh học thích hợp, có ái lực cao với các tế bào mục tiêu nhằm bắt và giữ tế bào mục tiêu. Do đó, tế bào đích bị bắt và được ngăn không bị rửa trôi do được gắn với các đánh dấu sinh học. Mật độ của các tế bào mục tiêu trên các tế bào không phải mục tiêu ảnh hưởng đến độ chính xác của việc phát hiện. Kết quả mô phỏng cho thấy độ sai khác điện dung đạt đến 3,4 fF khi có 25 tế bào, tức là thiết bị đề xuất đủ khả năng để phát hiện tế bào.

4.4. Thiết lập hệ đo

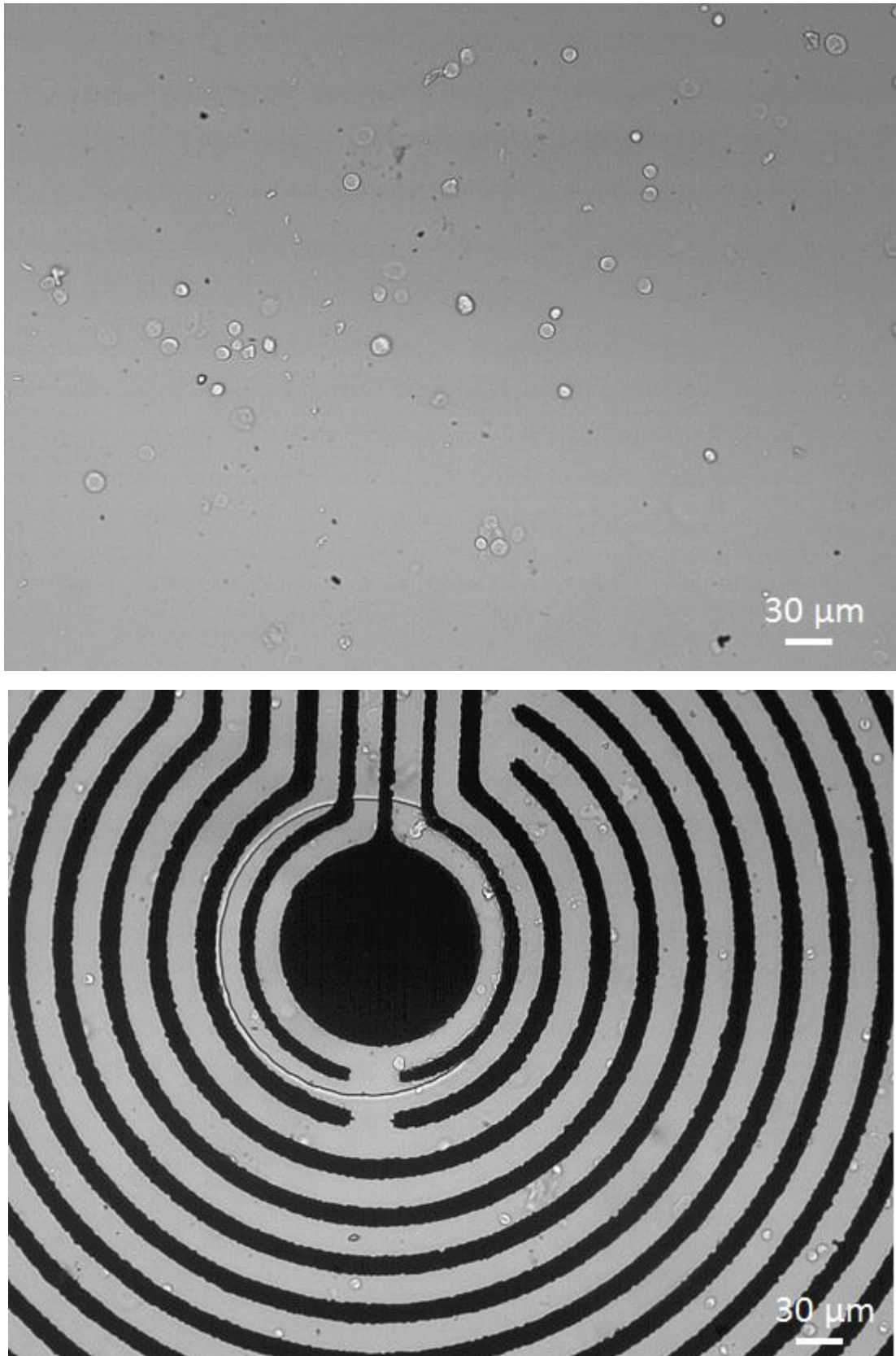
Nhằm mục đích kiểm tra, đánh giá hoạt động của hệ thống, một hệ đo được thiết lập như mô tả trên Hình 4.9. Tín hiệu vi sai từ cảm biến điện dung được đưa qua các mạch khuếch đại vi sai, chỉnh lưu, lọc và sau đó đưa tới bộ biến đổi tương tự-số và số liệu được lưu lại về máy tính. Chip vi lỏng được đặt dưới một kính hiển vi truyền qua soi ngược với độ phóng đại có thể thay đổi được trong dải 10 – 100 lần nhằm quan sát

xác định hiệu quả của việc tập trung tế bào và đo lường số lượng tế bào chênh lệch ở trong buồng.



Hình 4.9: Sơ đồ khối hệ thống đo đạc thực nghiệm.

Một số hình ảnh quan sát tế bào và cấu trúc tập trung tế bào thông qua kính hiển vi truyền qua được trình bày trên hình Hình 4.10. Hình 4.10(a) là hình ảnh tế bào ung thư phổi A549, kích thước của tế bào có thể thấy vào khoảng 10-15 μm . Cấu trúc tập trung tế bào bằng nguyên lý điện di được trình bày ở hình Hình 4.10(b). Có nhận thấy cấu trúc đã được chế tạo với kích thước như thiết kế và hệ thống thí nghiệm thiết lập hoàn toàn có thể sử dụng để tiến hành thử nghiệm, xác nhận hoạt động của hệ thống.



Hình 4.10: Hình ảnh quan sát tế bào ung thư phổi A549 và cấu trúc thao tác tế bào DEP.
(a) Tế bào A549. (b) Cấu trúc DEP.

KẾT LUẬN

Khóa luận trình bày về nghiên cứu phát triển cảm biến điện dung vi lỏng nhằm phát hiện tế bào ung thư phổi A549 cho mục đích phát hiện sớm bệnh. Một cấu trúc cảm biến điện dung không tiếp xúc được thiết kế, mô phỏng dựa trên công nghệ vi cơ điện tử. Cấu trúc cảm biến thiết kế gồm 3 điện cực hoạt động dựa trên nguyên lý vi sai. 3 điện cực tạo thành 2 cặp tụ: so sánh và cảm nhận. Sự có mặt của tế bào đích phía trên tụ cảm nhận sẽ làm mất cân bằng tụ vi sai và được phát hiện.

Hệ thống được mô phỏng xác nhận hoạt động sử dụng phương pháp phân tích các phần tử hữu hạn (FEM) dùng COMSOL Multiphysics. Quy trình chế tạo cảm biến điện dung vi lỏng pháp hiện tế bào sống A549 đã được nghiên cứu xây dựng dựa trên công nghệ vi chế tạo. Hệ thống đo đặc thử nghiệm hệ thống kênh dẫn vi lỏng tích hợp cảm biến điện dung cũng đã được xây dựng phục vụ cho thực nghiệm phát hiện tế bào sống A549. Kết quả từ nghiên cứu này là tiền đề quan trọng trong việc phát triển hệ thống kênh vi lỏng phát hiện tế bào sống A549 phục vụ cho xét nghiệm tầm soát bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] E. K. Sackmann, A. L. Fulton, and D. J. Beebe, “The present and future role of microfluidics in biomedical research,” *Nature*, vol. 507, no. 7491, pp. 181–189, Mar. 2014.
- [2] X. Chen, *On-Chip Pretreatment of Whole Blood by Using MEMS Technology*. Bentham Science Publishers, 2012.
- [3] K. Khoshmanesh, S. Nahavandi, S. Baratchi, A. Mitchell, and K. Kalantar-zadeh, “Dielectrophoretic platforms for bio-microfluidic systems,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 26, no. 5, pp. 1800–1814, Jan. 2011.
- [4] N.-T. Nguyen and S. T. Wereley, *Fundamentals and applications of microfluidics*. Boston: Artech House, 2006.
- [5] Y. Xu, X. Yang, and E. Wang, “Review: Aptamers in microfluidic chips,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 683, no. 1, pp. 12–20, Dec. 2010.
- [6] J. H. Myung and S. Hong, “Microfluidic devices to enrich and isolate circulating tumor cells,” *Lab Chip*, 2015.
- [7] R. Harouaka, Z. Kang, S.-Y. Zheng, and L. Cao, “Circulating tumor cells: advances in isolation and analysis, and challenges for clinical applications,” *Pharmacol Ther*, vol. 141, no. 2, pp. 209–21, 2014.
- [8] P. D. Tam, N. Van Hieu, N. D. Chien, A.-T. Le, and M. Anh Tuan, “DNA sensor development based on multi-wall carbon nanotubes for label-free influenza virus (type A) detection,” *J. Immunol. Methods*, vol. 350, no. 1–2, pp. 118–124, Oct. 2009.
- [9] “Impact parameters on hybridization process in detecting Influenza Virus (type A) using Conductometric based on DNA sensor,” *Phys. E*, vol. 41, p. 1567, 2009.

- [10] H. B. Nguyen, V. C. Nguyen, V. T. Nguyen, T. T. T. Ngo, N. T. Nguyen, T. T. H. Dang, D. L. Tran, P. Q. Do, X. N. Nguyen, X. P. Nguyen, H. K. Phan, and N. M. Phan, "Graphene patterned polyaniline-based biosensor for glucose detection," *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 3, no. 2, p. 25011, May 2012.
- [11] 4. Ngoan Thi Nguyen, Lam Dai Tran, Duong Quang Le, Dien Gia Pham, Phuc Xuan Nguyen, Jun Seo Park, Jea Kweon Park, "A Novel Chitosan-Gossypol Based Nanocarrier for Anticancer Curcumin Drug Delivery 논문," *J. Chitin Chitosan*, vol. 17, no. 2, pp. 63–67, 2012.
- [12] P. Thu Ha, M. Huong Le, T. M. Nhung Hoang, T. Thu Huong Le, T. Quang Duong, T. H. H. Tran, D. L. Tran, and X. Phuc Nguyen, "Preparation and anti-cancer activity of polymer-encapsulated curcumin nanoparticles," *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 3, p. 35002, Sep. 2012.
- [13] X. Phuc Nguyen, D. L. Tran, P. Thu Ha, H. N. Pham, T. Trang Mai, H. Linh Pham, V. H. Le, H. M. Do, T. Bich Hoa Phan, T. H. Giang Pham, D. T. Nguyen, T. M. Nhung Hoang, K. Lam, and T. Quy Nguyen, "Iron oxide-based conjugates for cancer theragnostics," *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 3, p. 33001, Sep. 2012.
- [14] "Fe₃O₄/o-Carboxymethyl Chitosan/Curcumin-based Nanodrug System for Chemotherapy and Fluorescence Imaging in HT29 Cancer Cell Line," *Chem. Lett.*, vol. 40, no. 11, p. 1264–1266, 2011.
- [15] "Detection mRNA Lunx from blood, cancer tissue and ganglions of patients with lung cancer," *J. Vietnam cancer*, pp. 450–457, 2013.
- [16] "Detection of survivin mRNA, hMAM mRNA from circulating tumor cells. J. VN. Medicine," *J. VN. Med.*, vol. 396, no. 2, pp. 5–11, 2012.
- [17] "Studing on Expression of gene encoding scFv antibody specific to HER2 Antigen in Silkworm," *J. VN. Med.*, vol. 410, no. 2, pp. 23–28, 2013.
- [18] T. H. La, T. T. T. Nguyen, V. P. Pham, T. M. H. Nguyen, and Q. H. Le, "Using DNA nanotechnology to produce a drug delivery system," *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 4, no. 1, p. 15002, 2013.
- [19] T. H. Le, V. P. Pham, T. H. La, T. B. Phan, and Q. H. Le, "Electrochemical aptasensor for detecting tetracycline in milk," *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 7, no. 1, p. 15008, 2016.
- [20] T. T. D. Le, T. H. Pham, T. N. Nguyen, T. H. G. Ngo, T. M. N. Hoang, and Q. H. Le, "Evaluation of anti-HER2 scFv-conjugated PLGA-PEG nanoparticles on

- 3D tumor spheroids of BT474 and HCT116 cancer cells,” *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 7, no. 2, p. 25004, 2016.
- [21] K. Thach Nguyen, D. V. Le, D. H. Do, and Q. Huan Le, “Development of chitosan graft pluronic®F127 copolymer nanoparticles containing DNA aptamer for paclitaxel delivery to treat breast cancer cells,” *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 7, p. 25018, Jun. 2016.
- [22] Pohl H. A., *J. Appl. Phys.* 22, 869 (1951).10.1063/1.1700065
- [23] Mottelay P. F., *Bibliographical History of Electricity and Magnetism* (Charles Griffin, London, 1922).
- [24] Opekar Frantisek, Tuma Petr, and Stulik Karel (2013), “Contactless impedance sensors and their application to flow measurements,” *Sensors* (Basel), 13(3), pp. 2786-2801.
- [25] Nguyễn Minh Hà, Trần Huy Thịnh, Trần Vân Khánh, Tạ Thành Văn, (2014), “ERLOTINIB bước một trên bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ giai đoạn muộn có đột biến gen EGFR,”
- [26] Wang, Baoliang, Ying Zhou, Haifeng Ji, Zhiyao Huang, and Haiqing Li (2013), “Measurement of bubble velocity using Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection (C4D) technique,” *Particuology*, 11(2), pp. 198-203.
- [27] Ebrahim G.Z., and Mohamad S. (2010), *CMOS Capacitive Sensors for Lab-on-Chip Applications*, Springer Science+Business Media B.V.
- [28] Mamishev A.V., Sundara-Rajan K., Yang F., Du Y.Q., Zahn M. (2004), “Interdigital sensors and transducers,” *Proc. IEEE* 92, pp.808–845.
- [29] Q.L. Do¹, T.T. Bui^{1,2}, T.T.H. Tran³, K. Kikuchi², M. Aoyagi², T. Chu Duc, “Differential Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection (DC4D) Sensor for Detection of Object in Microfluidic Channel,” in *SENSORS, 2015 IEEE. 2015*.
- [30] Nguyen Ngoc Viet, *Fluidic Channel Detection System Using a Differential C⁴D Structure*, Master Thesis in Electronics and Telecommunications Technology, 2015.
- [31] Robbins A., & Miller W. (2000), *Circuit analysis: Theory and practice*, Albany: Delmar.
- [32] Glisson T.H. (2011), *Introduction to Circuit Analysis and Design*, Springer Science Business Media.
- [33] T. T. H. Tran ; N. V. Nguyen ; N. C. Nguyen ; T. T. Bui ; T. Chu Duc, *Biological microparticles detection based on differential capacitive sensing and*

dielectrophoresis manipulation, International Conference on Advanced Technologies for Communications, pp.297-310, 2016.