



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0028097

(51)⁷ G01N 21/64; G01N 21/65

(13) B

(21) 1-2016-04735

(22) 07/05/2015

(86) PCT/JP2015/063219 07/05/2015

(87) WO2015/170711 12/11/2015

(30) PCT/JP2014/062318 08/05/2014 JP; 2015-036645 26/02/2015 JP

(45) 25/04/2021 397

(43) 25/04/2017 349A

(73) MYTECH CO., LTD. (JP)

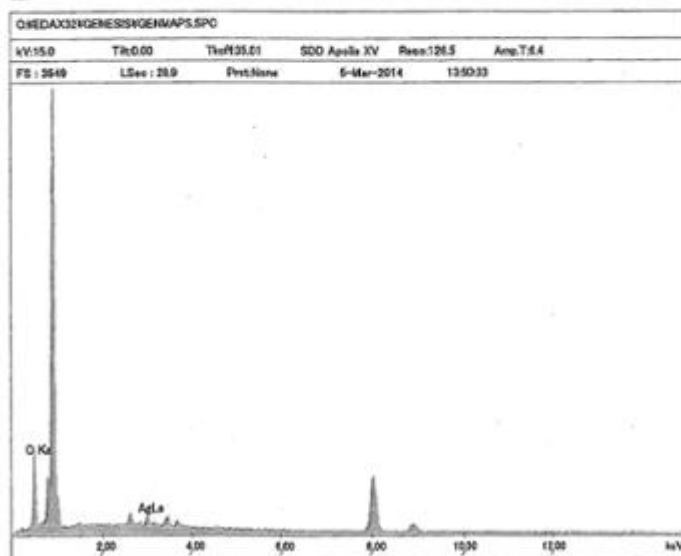
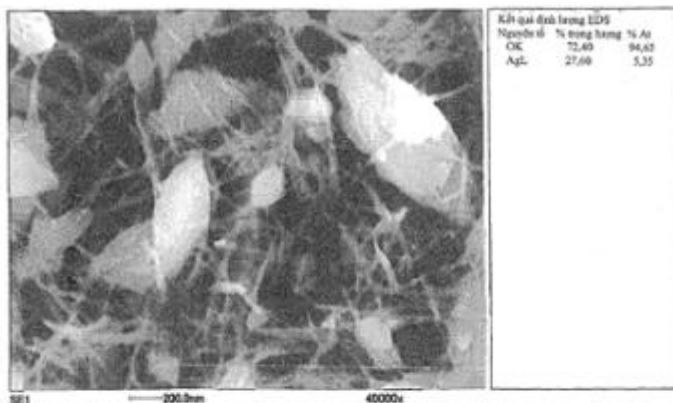
4652-4, Funatsu-cho, Himeji-shi, Hyogo 6792101, Japan

(72) HASEGAWA, Yuki (JP); HASEGAWA, Katsuyuki (JP).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) CHIP PLASMON VÀ PHƯƠNG PHÁP QUAN SÁT CHẤT LIÊN QUAN ĐẾN
UNG THƯ

(57) Sáng chế đề cập đến chip plasmon và phương pháp quan sát chất liên quan đến ung thư. Theo sáng chế, chất liên quan đến ung thư trong máu hoặc mẫu sinh học có thể được phát hiện theo cách lựa chọn, sao cho trở nên có thể xác định sự xuất hiện của ung thư bằng cách quan sát ảnh huỳnh quang của tinh thể chất liên quan đến cảm biến hoặc trạng thái đồng tụ của tinh thể trên chip plasmon. Ngoài ra, trạng thái biến đổi hóa học của đuôi histon có thể được xác định bằng cách phân tích quang phổ Raman, sao cho trở nên có thể phát hiện sự xuất hiện của ung thư trong giai đoạn sớm và để xác định các giai đoạn tiến triển của ung thư. Hơn thế nữa, vị trí của chất liên quan đến ung thư kết tụ trên chất có thể không xác định được bằng mắt thường. Sau đó, theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất phương pháp chẩn đoán ung thư, phương pháp này khác biệt ở chỗ, trước tiên nhận diện vị trí của vùng tinh thể bằng cách quan sát ảnh huỳnh quang trên kính hiển vi và tiếp đó chiếu xạ tinh thể, bằng chùm tia laze để phân tích khi xét đến biến đổi hóa học của đuôi histon và yếu tố tái cấu trúc.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chip quan sát ảnh huỳnh quang (chip plasmon) bằng kính hiển vi huỳnh quang và phương pháp phân tích chẩn đoán ung thư bằng việc quan sát huỳnh quang tự động và quang phổ Raman đối với dịch thể, cụ thể là đến chất liên quan đến ung thư và chất chỉ điểm khối u được hấp thụ với chip plasmon này và được cải thiện bằng cách cộng hưởng plasmon bề mặt cục bộ (surface plasmon resonance-SPR).

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Trong lĩnh vực chẩn đoán ung thư và trị liệu, dưới dạng chất liên quan đến ung thư, ADN được metyl hóa và protein của chúng được gắn kết vào histon (thể nhân và chất nhiễm sắc) đã thu hút nhiều sự chú ý. Việc chẩn đoán đơn giản và phát hiện sớm sự xuất hiện của ung thư để hấp thụ hoặc bắt giữ chúng và phân tích quá trình tinh thể hóa của chúng hoặc trạng thái kết tụ nhờ chẩn đoán ảnh huỳnh quang và phân tích SERS trong đó quá trình biến đổi hóa học của trạng thái metyl hóa ADN và trạng thái mã hóa histon có thể được phát hiện nhờ phát xạ laze lên tinh thể là điều quan trọng.

Thông tin để tạo ra tất cả các tế bào cơ thể có trong ADN. ADN được cấu thành bởi trình tự duy nhất của bốn bazơ, adenin (A), guanin (G), thymin (T) và xytosin (C). Các bazơ này là các cặp giữa A và T cũng như G và C trên hai sợi để tạo ra xoắn đôi ADN. Chuỗi của các cặp này, lưu trữ tất cả thông tin vào trong vùng được gọi là gen để tạo ra các phân tử đặc hiệu được tạo nhóm. Trong mỗi tế bào, có quá trình xác định các dấu hiệu đặc hiệu tế bào bằng cơ chế gen kiểm soát cần phải được kích hoạt, đó là, kiểm soát quá trình biểu hiện gen, một cơ chế trong số các cơ chế kiểm soát này được đề xuất bằng cách bổ sung nhóm metyl vào xytosin (C). C được gắn nhãn bởi nhóm metyl có thể được thể hiện dưới dạng mC.

Quá trình metyl hóa ADN, được cho là đóng vai trò quan trọng trong việc xác định xem liệu một phần của gen có được biểu hiện hay không, trong đó việc làm bất hoạt gen không cần thiết, tạo ra quá trình metyl hóa ADN. Nó là cơ chế kiểm soát cơ bản đối với quá trình phát triển bình thường của cơ thể và chức năng. Hơn nữa, quá

trình metyl hóa ADN dị thường, được cho là một cơ chế trong số các cơ chế dẫn đến các thay đổi mà được quan sát với quá trình lão hoá và tạo ra nhiều ung thư.

Cho đến nay, ung thư đã được cho là liên quan đến các thay đổi di truyền do các đột biến nhiễm sắc thể trong ADN gây ra. Đột biến, bất kể di truyền hoặc di truyền tập nhiễm, có thể dẫn đến việc làm mất sự biểu hiện của gen quan trọng để duy trì trạng thái khỏe mạnh. Giờ đây, đã chứng thực được rằng, tương đối nhiều ung thư, trong nhiều trường hợp, do quá trình metyl hóa ADN không thích hợp gây ra gắn với quá trình đột biến ADN. Trong nhiều trường hợp, quá trình metyl hóa ADN quá mức, ví dụ, sẽ làm bất hoạt nhầm lẫn gen quan trọng thành gen ngăn chặn khối u hoặc gen sửa đổi ADN, mà sẽ cho phép ung thư phát triển và tiến triển. Quá trình không đột biến để kiểm soát sự biểu hiện gen được gọi là quá trình di truyền học biểu sinh.

Quá trình metyl hóa ADN, là sự biến đổi hóa học của ADN được diễn ra bằng enzym được gọi là các methyltransferaza, trong đó nhóm metyl (m) được bổ sung vào xytosin đặc hiệu (C) trong ADN. Quá trình không đột biến (di truyền học biểu sinh) (mC), được cho là yếu tố quyết định trong việc điều chỉnh sự biểu hiện gen (Tài liệu phi sáng chế 1). Do đó, từ cách nhìn tập trung dựa vào việc phát hiện quá trình metyl hóa ADN, phương pháp phát hiện sớm ung thư ruột kết đã được đề xuất (Tài liệu sáng chế 1). Tuy nhiên, việc phát hiện ADN metyl hóa là quá phức tạp và khó khăn, do đó không phù hợp cho quá trình phát hiện đơn giản và nhanh chóng vì tốn nhiều thời gian và chi phí.

Do đó, có mong muốn đề xuất phương pháp đo huỳnh quang của chất chỉ điểm một cách chính xác và tùy thuộc vào mật độ thấp với việc vận hành đơn giản trên kính hiển vi huỳnh quang có bán trên thị trường bằng cách sử dụng tấm kim loại tinh thể nano, mà phù hợp đối với nền quan sát huỳnh quang mà không cần phải có hệ thống quang học đặc hiệu.

Hiện nay, dưới dạng phương pháp phát hiện chất chỉ điểm, đã có đề xuất phương pháp cộng hưởng plasmon bề mặt (surface plasmon resonance-SPR) và thiết bị dùng để thực hiện nó (Tài liệu sáng chế 2) và phương pháp thử nghiệm hấp thụ miễn dịch gắn kết enzym (enzyme-linked immunosorbent assay-ELISA) đã được đề xuất. Mặc dù quá trình vận hành SPR đề xuất trước là đơn giản và nhanh chóng, vẫn có vấn đề với giá của thiết bị này và chip cũng như vấn đề thiếu độ nhạy, trong khi ELISA đề xuất sau

này có các vấn đề về tốc độ và khả năng vận hành không tốt đối với phương pháp chẩn đoán điểm mặc dù giá của thiết bị và chip không cao với độ nhạy cao. Do đó, thay vào đó, phương pháp sử dụng chip plasmon để thực hiện việc phát hiện nhanh chóng và có độ nhạy huỳnh quang được đề xuất bằng cách tạo ra màng mỏng của bạc và kẽm oxit lắng đọng trên nền với cấu trúc định kỳ của chất chỉ điểm được ghi nhãn ở bước 350nm (Tài liệu sáng chế 3) và phương pháp sử dụng tấm tăng cường huỳnh quang plasmon cục bộ được đề xuất, trong đó tấm được tạo ra từ các hạt nano kim loại phân tán trong dung môi hữu cơ bằng cách làm bay hơi dung môi và tự ráp các hạt nano kim loại theo các hướng hai chiều (Tài liệu sáng chế 4).

Danh mục tài liệu được trích dẫn

Tài liệu sáng chế 1: Tokkyo No.2010-517582 JP

Tài liệu sáng chế 2: WO2011-11472 JP

Tài liệu sáng chế 3: Tokkai No. 2011-158369 JP

Tài liệu sáng chế 4: WO2013-039180 JP

Tài liệu phi sáng chế 1: JG Herman, Seminars in Cancer Biology, 9: 359-67, 1999.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Tuy nhiên, việc sản xuất ở quy mô lớn các chip plasmon là không dễ dàng và cả việc hấp thụ chất liên quan đến ung thư hoặc chất chỉ điểm đánh dấu huỳnh quang lên chip plasmon được sản xuất ở quy mô lớn là không dễ dàng, do đó khó tạo ra tác dụng cải thiện huỳnh quang trên chip plasmon hiện có. Do đó, sáng chế đề xuất chip plasmon mà dễ được sản xuất ở quy mô lớn, do đó chất liên quan đến ung thư hoặc chất chỉ điểm ghi nhãn huỳnh quang của chất hấp phụ như kháng thể và tương tự, có thể được hấp thụ vào chip plasmon, sao cho plasmon trên chip plasmon có thể tăng cường phát xạ cường độ huỳnh quang từ một vài lần đến một vài chục lần do đó hiện thực hoá phương pháp chẩn đoán ung thư bằng cách sử dụng ảnh huỳnh quang đã được chẩn đoán trên chip plasmon.

Theo sáng chế, thứ nhất có thể đề xuất các nền chứa 1) các tinh thể lượng tử phức bạc và 2) bạc peroxit dạng tinh thể meso được tạo ra bằng cách xử lý bằng kiềm của các tinh thể lượng tử phức bạc, mà không chỉ tính chất vật lý của cộng hưởng

plasmon bề mặt cục bộ (localized surface plasmon resonance-LSPR) bằng cách bức xạ ánh sáng bao gồm tia tử ngoại và tia hồng ngoại và cả tính chất hóa học mà cho phép hấp thụ kháng thể, chất chỉ điểm nhãn huỳnh quang và phối tử với chất chỉ điểm nhãn huỳnh quang là một dạng phối tử khi các tinh thể lượng tử phức bạc được tạo ra. Mặt khác, bạc peroxit dạng tinh thể meso có tính chất hóa học khác để hấp thụ chất liên quan đến ung thư, như thể nhân hoặc chất nhuộm sắc bao gồm ADN trong huyết thanh, cụ thể là histon được bao quanh bởi ADN. Do đó, sáng chế có thể được tạo ra dựa vào việc phát hiện ra rằng chip plasmon có thể được dùng để quan sát ảnh huỳnh quang dưới kính hiển vi huỳnh quang, nhằm phân xét hoặc phát hiện sự có mặt hoặc không có mặt của ung thư bằng cách hấp thụ theo cách chọn lọc chất chỉ điểm ung thư hoặc thể nhân và clomatin làm chất liên quan đến ung thư. Theo sáng chế, có thể đề xuất chip plasmon trong đó vùng chứa tinh thể lượng tử của phức kim loại plasmon được tạo ra trên nền để hấp thụ hoặc bắt giữ theo cách chọn lọc chất chỉ điểm khối u với chất liên quan đến ung thư và cần được cải thiện bởi chức năng cộng hưởng plasmon bề mặt cục bộ. Hơn nữa, theo sáng chế, có thể đề xuất chip plasmon trong đó vùng chứa tinh thể meso của tinh thể nano của bạc oxit hoặc oxit chứa bạc peroxit được tạo ra từ tinh thể lượng tử của phức bạc, được tạo ra trên nền kim loại bằng cách xử lý bằng kiềm trong đó tinh thể meso có khả năng hấp thụ hoặc bắt giữ chất liên quan đến ung thư và cần được cải thiện bởi chức năng cộng hưởng plasmon bề mặt cục bộ bằng cách bức xạ ánh sáng trong vùng tinh thể do đó quan sát ảnh huỳnh quang tự động.

Theo sáng chế, thứ hai có thể đề xuất phương pháp thực hiện việc tạo ảnh ung thư bằng cách sử dụng chip plasmon, trong đó phương pháp này bao gồm các bước tạo ra chip plasmon mà có vùng trung gian-tinh thể được tạo ra bằng cách xử lý bằng kiềm từ các tinh thể lượng tử phức bạc và chứa tinh thể nano của bạc oxit chứa bạc peroxit; bổ sung từng giọt huyết thanh hoặc mẫu sinh học dạng lỏng lên vùng tinh thể của chip plasmon, để hấp thụ theo cách chọn lọc và bắt giữ chất liên quan đến ung thư có phân tử protein mang điện tích dương trong mẫu; phát xạ tinh thể đồng tụ trên chip plasmon với ánh sáng để quan sát ảnh huỳnh quang tự động để chẩn đoán sự có mặt hoặc không có mặt của ung thư. Mặt khác, sáng chế có thể đề xuất phương pháp khác, trong đó phương pháp này bao gồm các bước tạo ra tinh thể lượng tử phức bạc trên nền kim loại có thể điện cực kém phổ biến hơn so với thể điện cực giảm của phức bạc, trong đó chất chỉ điểm khối u có chức năng huỳnh quang với phối tử gồm tinh thể phức kim loại

lượng tử hoặc là một trong số các phối tử được bổ sung để đặt chất chỉ điểm khối u vào vùng tinh thể trong các tinh thể lượng tử phức bạc và bức xạ ánh sáng tinh thể lượng tử phức bạc vùng để tăng cường cường độ huỳnh quang phát xạ của chất chỉ điểm khối u bằng cách cộng hưởng plasmon bề mặt cục bộ và quan sát ảnh huỳnh quang ở ung thư.

Ngoài ra, vị trí của chất liên quan đến ung thư được kết tụ trên nền không thể xác định được bằng mắt thường. Sáng chế có thể đề xuất phương pháp chẩn đoán ung thư, trong đó phương pháp này khác biệt ở chỗ việc xác định vị trí của vùng tinh thể của nó được tạo ra bằng ảnh nhìn thấy khác biệt bằng kính hiển vi dưới phát xạ laze và sau đó phân tích biến đổi hóa học của các đuôi histon và yếu tố sửa đổi lại có thể được tạo ra (Fig.19). Thứ ba, sáng chế có thể đề xuất phương pháp chẩn đoán ung thư của quang phổ Raman, trong đó phương pháp này bao gồm các bước quan sát ảnh huỳnh quang của chất liên quan đến ung thư được bắt giữ trên chip plasmon làm dấu hiệu đối với phát xạ laze và phát xạ ảnh huỳnh quang với các ánh sáng laze khác nhau 514nm, 532nm, 633nm và 785nm để phân tích chính xác. Do đó, sáng chế đề cập đến phương pháp chẩn đoán dịch thể, cụ thể được bắt giữ theo cách chọn lọc chất liên quan đến ung thư trong máu, cũng như phương pháp phân tích cấu trúc của histon hoặc chất nhuộm sắc, bằng cách phân tích các yếu tố mà là biến đổi hóa học của đuôi histon, sự tồn tại của ung thư. Phương pháp được dự định cho phép chẩn đoán giai đoạn sớm của ung thư cũng như sự có mặt hoặc không có mặt của ung thư.

Theo sáng chế, chip plasmon, làm cho nó có thể hấp phụ theo cách chọn lọc chất liên quan đến ung thư hoặc chất chỉ điểm khối u, sao cho cộng hưởng plasmon bề mặt cục bộ làm cho cường độ huỳnh quang của ảnh huỳnh quang được cải thiện, do đó có thể tạo điều kiện thuận tiện cho việc xác định chẩn đoán ung thư dựa vào ảnh huỳnh quang. Theo cách này, thế điện cực kém hơn (có xu hướng ion hóa lớn) của nền kim loại so với phức kim loại dẫn đến sự chênh lệch điện thế (hiệu điện thế) để làm cho kết tụ các tinh thể lượng tử (các tinh thể phức kim loại cỡ nano) từ dung dịch phức kim loại bằng phương pháp khử hóa học. Trong trường hợp của phức bạc, các tinh thể lượng tử của phức bạc có thể được tạo ra bằng cách khử hóa học trong đó kết tụ của các tinh thể lượng tử của phức bạc trên nền kim loại từ dung dịch nước bạc thiosulfat do thế điện cực mạnh (có xu hướng ion hóa cao hơn) của bạc so với thế điện cực đồng hoặc hợp kim đồng gây ra. Cụ thể, nồng độ của phức kim loại trong dung dịch nước chủ yếu nên được xác định khi cân nhắc kích cỡ của các tinh thể lượng tử được tạo ra, do đó nồng

độ của tác nhân phân tán, nếu được sử dụng, phải được xem xét. Mặc dù nồng độ nằm trong khoảng từ 100 đến 5000ppm có thể được sử dụng, được ưu tiên là nằm trong khoảng từ 500 đến 2000ppm để tạo ra tinh thể cỡ nano gọi là cụm nano tùy thuộc vào chức năng của phối tử.

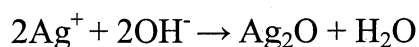
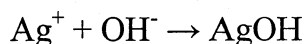
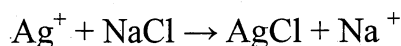
Phức kim loại cần được tạo ra làm tinh thể lượng tử được chọn khi cân nhắc hằng số ổn định phức ($\log\beta$) theo công thức (I) sau để tạo tương quan thế điện cực E của kim loại trợ giúp.

$$\text{Công thức (I): } E^\circ = (RT / |Z| F) \ln (\beta_i)$$

Trong đó E° là thế điện cực chuẩn, R là hằng số khí, T là nhiệt độ tuyệt đối, Z là hóa trị ion, F thể hiện hằng số Faraday.

Trong trường hợp các phức của plasmon kim loại được chọn từ nhóm bao gồm Au, Ag, Pt và Pd, hiệu quả cải thiện do cộng hưởng plasmon bề mặt cục bộ gây ra có thể thu được bằng tán xạ ánh sáng Raman. Cụ thể, trong trường hợp phức bạc, phức bạc có thể được tạo ra bằng phản ứng mà có thể tốt hơn là được tiến hành giữa tác nhân tạo phức bạc có hằng số ổn định (hằng số tạo ra) ($\log\beta_i$) bằng 8 hoặc lớn hơn và bạc halogenua, tốt hơn là bạc clorua. Tác nhân tạo phức có thể được chọn từ nhóm bao gồm thiosulfat, thioxyanat, sulfit, thioure, kali iodua và muối của axit thiosalixylic, phức bạc trở nên các tinh thể lượng tử nằm trong khoảng từ 100 đến 200nm được đề xuất với các chấm lượng tử được tạo ra từ các cụm nano có đường kính trung bình nằm trong khoảng từ 5 đến 20nm.

Tin rằng, việc xử lý bằng kiềm (bằng dung dịch nước natri hypoclorit) làm cho các tinh thể lượng tử phức bạc cần được thay đổi thành dạng kim hoặc tinh thể nano hình kim của composit bạc oxit, chứa bạc peroxit làm lõi của bạc halogenua bằng phản ứng sau (Fig.5). Composit bạc oxit thể hiện điện tích âm (-) trong nước trong khi histon được quấn quanh bởi ADN thể hiện điện tích dương (+) (Fig.7 (a)), do đó phát hiện ra rằng chất liên quan đến ung thư mang điện tích dương bao gồm thể nhân tự do được hấp phụ theo cách chọn lọc. Hơn thế nữa, đã phát hiện ra rằng tinh thể nano hình kim của bạc oxit chứa bạc peroxit có thể được khử bằng phương tiện phát xạ với chùm tia laze và được thay đổi hơn nữa thành kim loại bạc, do đó thể hiện hiệu quả cải thiện plasmon bề mặt bằng phương tiện phát xạ chùm tia laze, mà làm cho có thể phát hiện histon bằng huỳnh quang tự động của chất liên quan đến ung thư.



Theo sáng chế, tinh thể nano dạng kim của composit bạc oxit chứa bạc peroxit, có thể được tạo ra bằng tác động tự tổ chức hoặc hiện tượng như siêu cấu trúc ba chiều giống noron (được gọi là tinh thể meso, xem các hình vẽ Fig.8 và Fig.9). Composit bạc oxit có thể được tạo ra bằng cách lắng đọng tĩnh điện sử dụng điện cực Ag/AgCl trong dung dịch nước ion bạc và còn có thể được tạo ra bằng cách oxy hóa tinh thể lượng tử bạc với xử lý bằng kiềm. Ví dụ, trong trường hợp bạc thiosulfat, các tinh thể lượng tử phức bạc có thể dễ dàng được tạo ra bằng cách xử lý bằng kiềm (bằng dung dịch nước natri hypoclorit).

Hơn nữa, theo sáng chế, việc sử dụng chip plasmon, làm cho có thể phát hiện sự có mặt của chất liên quan đến ung thư trong mẫu sinh học bao gồm máu và còn để xác định trạng thái biến đổi hóa học trong đó việc sửa đổi lại chất nhuộm sắc được kiểm soát, thông qua chẩn đoán ảnh huỳnh quang. Cụ thể, theo sáng chế, phương pháp này bao gồm bước tạo ra chip plasmon với composit tinh thể nano dạng kim của bạc oxit chứa bạc halogenua hoặc halogen, cụ thể, bước tạo ra chip plasmon có vùng tinh thể meso của bạc oxit chứa bạc peroxit (các hình vẽ Fig.8 và Fig.9), nhỏ giọt plasma huyết thanh hoặc dung dịch mẫu sinh học lên vùng tinh thể nano dạng kim trên chip plasmon, do đó hấp thụ hoặc bắt giữ theo cách chọn lọc chất liên quan đến ung thư có điện tích dương trong mẫu.

Chẩn đoán ảnh của chip plasmon trên tinh thể

Chất liên quan đến ung thư được hấp thụ có thể được quan sát bằng cách phát xạ laze của tia tử ngoại, tia hồng ngoại hoặc xanh bằng kính hiển vi huỳnh quang (phóng đại 50 lần). Ảnh huỳnh quang của chất liên quan đến ung thư được thể hiện trên các hình vẽ Fig.1 (a), (b) và (c) trong trường hợp ung thư dạ dày và trên các hình vẽ Fig.2 (a), (b) và (c) trong trường hợp ung thư ruột kết trong khi không có ảnh huỳnh quang nào của các mẫu có thể được thể hiện trong trường hợp ung thư lành tính. Hình học, độ sáng và kích cỡ của ảnh huỳnh quang có thể được định lượng và các trị số thu được

được đưa vào xử lý biểu đồ. Khi được quan sát bằng kính hiển vi huỳnh quang, các hình dạng tinh thể giữa ung thư lành tính và ung thư dạ dày hoặc ung thư ruột kết có thể thể hiện sự chênh lệch nhất định. Do đó, được hiểu rằng, việc sử dụng chip plasmon được trang bị tinh thể meso chứa bạc peroxit hoặc peroxit, làm cho có thể hấp thụ hoặc bắt giữ theo cách chọn lọc chất liên quan đến ung thư trong máu và để xác định sự có mặt hoặc không có mặt của ung thư bằng việc quan sát ảnh huỳnh quang.

Chẩn đoán ảnh của chất chỉ điểm khối u trên chip plasmon

Mặc dù tinh thể của chất chỉ điểm khối u được hấp phụ trên chip plasmon không thể quan sát được bằng mắt thường, sự phát xạ của tia tử ngoại, hồng ngoại, hoặc laze xanh làm cho có thể quan sát tinh thể bằng kính hiển vi huỳnh quang (50 lần), trong đó các khối tinh thể được phân tán dạng điểm có thể quan sát được. Việc phát hiện quang phổ Raman từ đó bằng cách phát xạ các chùm tia laze khác nhau làm cho có thể xác định ung thư với cường độ tán xạ Raman được cải thiện bề mặt (SERS).

Bắt giữ theo cách chọn lọc chất liên quan đến ung thư

Theo sáng chế, cần phải hiểu rằng chất liên quan đến ung thư trong huyết thanh có thể bao gồm, histon được quấn quanh bởi ADN (do đó được gọi là thể nhân) và cả chất nhuộm sắc (sợi) trong đó histon kết tụ và tạo ra cấu trúc dạng sợi. Đã được thể hiện rằng, chất cần được phát hiện theo sáng chế dường như chất liên quan đến ung thư khi cần nhắc sự tăng thể tích của chúng vì mặc dù globulin mang điện tích dương, globulin tăng lên đến tối đa là 2 lần, trong khi chất liên quan đến ung thư tăng lên đến 100 lần kết hợp với sự tiến triển ung thư. Hơn thế nữa, ADN được lấy ra từ tế bào bình thường, ADN được phân ly từ histon bằng việc axetyl hóa và albumin chiếm khoảng 60% huyết thanh, nhưng do việc mang điện âm của chúng, chúng sẽ không được hấp thụ theo sáng chế. Do đó, nó ưu điểm đối với ảnh huỳnh quang của chất liên quan đến ung thư. Để khẳng định hiện tượng này, tiến hành các thử nghiệm sau.

Fig.15 thể hiện ảnh với 100 lần phóng đại, 3000 lần phóng đại và ảnh 3D trong trường hợp 10 lần và 100 lần pha loãng các mẫu ung thư lành tính, ung thư dạ dày và ung thư ruột kết. Fig.16 thể hiện ảnh với 100 lần phóng đại, 3000 lần phóng đại với gợn sóng và ảnh 3D trong trường hợp Kato-III (ung thư biểu mô tế bào dấu nhẵn dạ dày). Sau đó, Kato-III được nuôi cấy và từ tế bào ung thư, ADN, ARN và Protein sợi đôi được chiết. (a, b, c) là ảnh ở 100 lần ảnh bề mặt, 3000 lần ảnh bề mặt và ảnh bề mặt 3D

của Kato-III (ung thư biểu mô tế bào đầu nhĩ dạ dày), trong khi (d, e, f) là ảnh với 100 lần phóng đại, 3000 lần phóng đại và ảnh 3D của ADN được chiết từ đó. (g, h, I) cũng là ảnh với 100 lần phóng đại, 3000 lần phóng đại và ảnh 3D của ARN. (j, k, l) thể hiện ảnh với 100 lần phóng đại, 3000 lần (phóng đại và gọn sóng) và ảnh 3D của Protein, trong khi (m, n, o) là ảnh với 100 lần phóng đại, 3000 lần phóng đại và ảnh 3D thể hiện bề mặt cấu trúc của các tế bào ung thư được nghiền về mặt vật lý Fig.17 thể hiện quang phổ tán xạ Raman trên chip plasmon cho tinh thể meso, trong đó chúng là các tế bào ung thư được nuôi cấy hóa học (a), ADN được chiết từ đó (b), ARN (c), Protein (d), các tế bào ung thư được nghiền vật lý (e), huyết thanh (f) từ người bị ung thư dạ dày, huyết thanh (g) từ người bị ung thư ruột kết và huyết thanh (h) từ người bị ung thư lành tính. Kato-III là ung thư biểu mô tế bào đầu nhĩ dạ dày, MKN-45 (dòng tế bào ung thư dạ dày phân hóa kém), CW-2 (dòng tế bào ung thư ruột kết có nguồn gốc từ Nhật Bản), PK45-P (dòng tế bào ung thư tuyến tụy ở người) và NHDF-Neo (nguyên bào sợi da). Do đó, dựa vào các kết quả này là, chất liên quan đến ung thư dường như được hấp thụ hoặc được bắt giữ theo cách chọn lọc và được phát hiện bằng chip plasmon theo sáng chế.

Hơn nữa, theo sáng chế, tin rằng tinh thể nano dạng kim (được gọi là tinh thể meso của bạc oxit hoặc oxit chứa bạc peroxit hoặc peroxit) được tạo ra với bạc oxit chứa bạc peroxit mà dễ dàng mang điện tích âm ở dung dịch nước do đó để tạo ra phức chuyển điện tích khi tiếp xúc với mẫu (các phân tử đích). Hơn thế nữa, bạc oxit có thể được khử bằng năng lượng ánh sáng để trở nên kim loại bạc, mà sẽ có hiệu quả tăng cường bằng cách cộng hưởng plasmon bề mặt cục bộ với các hạt nano kim loại được bố trí đều đặn. Do đó, tinh thể nano dạng kim (tinh thể meso) theo sáng chế, mặc dù nó là phi kim loại, được tạo ra với tính chất ion hóa cùng với tính chất kim loại, mà trở nên chip plasmon phù hợp để đo tán xạ Raman được cải thiện bề mặt (SERS), làm chip chẩn đoán ung thư.

Tin rằng, các tinh thể lượng tử được tạo ra trên nền kim loại hoặc các hạt kim loại với xu hướng có phân cực dương ở dung dịch nước làm tinh thể phức kim loại, do đó việc đưa vào chúng vào để xử lý bằng kiềm với sự có mặt của ion halogenua tốt hơn là điều chỉnh cực tính của chip bằng dung dịch natri hypoclorit độ pH lớn hơn 11 để hấp phụ cố định protein trong mẫu sinh học. Theo sáng chế, việc tái kết tinh các tinh thể lượng tử làm cho không chỉ có phân cực âm ở dung dịch nước, mà còn làm cho thay đổi

thành composit dạng kim của tinh thể nano của bạc oxit chứa bạc peroxit, do đó xúc tiến histon có điện tích dương trong chất liên quan đến ung thư được hấp thụ trên chip.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1A thể hiện ảnh hiển vi huỳnh quang của chất liên quan đến ung thư dạ dày mà được hấp phụ trên tinh thể chip plasmon bằng cách phát xạ tia tử ngoại (380nm).

Fig.1B thể hiện ảnh hiển vi huỳnh quang của chất liên quan đến ung thư dạ dày mà được hấp phụ trên chip plasmon bằng cách phát xạ laze hồng ngoại.

Fig.1C thể hiện ảnh hiển vi huỳnh quang của chất liên quan đến ung thư dạ dày mà được hấp phụ trên chip plasmon bằng cách phát xạ laze xanh.

Fig.2 thể hiện ảnh hiển vi huỳnh quang của chất liên quan đến ung thư ruột kết mà được hấp phụ trên chip plasmon bằng cách phát xạ (A) tia tử ngoại (380nm), (b) laze đỏ, (c) laze xanh.

Fig.3 là ảnh thể hiện sự tương quan giữa các hình dạng tinh thể lượng tử và thời gian để bắt động sau khi nhỏ giọt lên chất đồng phospho.

Fig.4 là đồ thị thể hiện kết quả của phân tích quang phổ EDS của các tinh thể lượng tử (phân tích yếu tố).

Fig.5 là ảnh thể hiện ảnh SEM của các tinh thể lượng tử đã được xử lý bằng kiềm với sự có mặt của ion halogen (xử lý bằng natri hypoclorit).

Fig.6A là ảnh thể hiện tinh thể dạng kim của các tinh thể lượng tử được xử lý bằng kiềm.

Fig.6B là ảnh thể hiện khối dạng bóng bầu dục trong tinh thể dạng kim.

Fig.6C là đồ thị thể hiện kết quả của quang phổ EDS khối lớn (phân tích yếu tố).

Fig.7 là hình minh họa chức năng thể hiện trạng thái của ADN tự do đã được methyl hóa (a) và trạng thái của ADN đã được axetyl hóa (b).

Fig.8 là hình vẽ nhìn (từ phía trên) của ảnh SEM thể hiện nền được tái kết tinh mà là nền tinh thể lượng tử đã được xử lý bằng kiềm với sự có mặt của ion halogen (xử lý bằng natri hypoclorit) (nhìn từ phía trên) và đồ thị (nhìn từ phía dưới) thể hiện kết quả (phân tích yếu tố) của quang phổ EDS của nền đã được tái kết tinh.

Fig.9 là đồ thị thể hiện kết quả đo XPS của nền tái kết tinh đã được xử lý bằng kiềm.

Fig.10 là đồ thị thể hiện kết quả đo XPS sau khi khắc bề mặt nền đã được tái kết tinh.

Fig.11 thể hiện ảnh hiển vi huỳnh quang của chất liên quan đến ung thư được hấp phụ trên chip plasmon trong trường hợp ung thư lành tính, (b) ung thư dạ dày, (c) ung thư ruột kết.

Fig.12A thể hiện ảnh hiển vi laze của mẫu thu được bằng cách điều chỉnh huyết thanh thu được từ người bị ung thư lành tính và biểu đồ của RGB.

Fig.12B thể hiện ảnh hiển vi laze của mẫu thu được bằng cách điều chỉnh huyết thanh thu được từ người bị ung thư dạ dày và biểu đồ của RGB.

Fig.12C thể hiện ảnh hiển vi laze của mẫu thu được bằng cách điều chỉnh huyết thanh thu được từ người bị ung thư ruột kết và biểu đồ của RGB.

Fig.13 thể hiện ảnh hiển vi plasmon của ảnh hiển thị tinh thể nhìn thấy được khác biệt và phương pháp đo quang phổ tán xạ Raman (không được điều chỉnh) của ung thư lành tính, ung thư dạ dày và ung thư ruột kết bằng cách tập trung ở tâm của tinh thể.

Fig.14 là ảnh quang phổ Raman thể hiện trạng thái biến đổi hóa học của các đuôi histon của chất liên quan đến ung thư dạ dày.

Fig.15 thể hiện ảnh hiển vi quét laze 3D (100 lần phóng đại, 3000 lần phóng đại và ảnh 3D) với 10 lần pha loãng và 100 lần pha loãng các mẫu ung thư lành tính (a, b, c; d, e, f), ung thư dạ dày (g, h, i; j, k, l), ung thư ruột kết (m, n, o, p, q, r), 3000 lần, sẽ thể hiện ảnh 3D. Ngoài ra, Fig.15 thể hiện biểu đồ mang màu RGB với 3000 lần phóng đại thu được bằng kính hiển vi quét laze 3D trong trường hợp các mẫu ung thư lành tính với 10 lần pha loãng (s, t), ung thư dạ dày (u, v) và ung thư ruột kết (w, x).

Fig.16 thể hiện ảnh với 100 lần phóng đại, 3000 lần phóng đại với gợn sóng và ảnh 3D trong trường hợp Kato-III (ung thư biểu mô tế bào dấu nhẵn dạ dày). Sau đó, Kato-III được nuôi cấy và từ ADN, ARN và Protein sợi đôi tế bào ung thư được chiết, trong đó (a, b, c) là ảnh với 100 lần ảnh bề mặt, 3000 lần ảnh bề mặt và ảnh bề mặt 3D của Kato-III (ung thư biểu mô tế bào dấu nhẵn dạ dày), trong khi (d, e, f) là ảnh với 100 lần phóng đại, 3000 lần phóng đại và ảnh 3D của ADN được chiết từ đó. (g, h, i) cũng

là ảnh với 100 lần phóng đại, 3000 lần phóng đại và ảnh 3D của ARN. (j, k, l) thể hiện ảnh với 100 lần phóng đại, 3000 lần (phóng đại và gợn sóng) và ảnh 3D của Protein, trong khi (m, n, o) là ảnh với 100 lần phóng đại, 3000 lần phóng đại và ảnh 3D thể hiện bề mặt cấu trúc của các tế bào ung thư nghiên bằng cách vật lý.

Fig.17 thể hiện quang phổ tán xạ Raman trên chip plasmon đối với tinh thể meso trong đó chúng là các tế bào ung thư được nuôi cấy hóa học (a), ADN chiết được từ đó (b), ARN (c), Protein (d), các tế bào ung thư nghiên bằng cách vật lý (e), huyết thanh (f) từ người bị ung thư dạ dày, huyết thanh (g) từ người bị ung thư ruột kết và huyết thanh (h) từ người bị ung thư lành tính, trong đó Kato-III là ung thư biểu mô tế bào đầu nhẵn dạ dày, MKN-45 (dòng tế bào ung thư dạ dày phân hóa kém), CW-2 (dòng tế bào ung thư ruột kết có nguồn gốc từ Nhật Bản), PK45-P (dòng tế bào ung thư tuyến tụy ở người) và NHDF-Neo (nguyên bào sợi của da).

Fig.18 thể hiện biểu đồ của các kháng thể liên quan đến histon để nhận biết biến đổi hóa học của các đuôi histon (xem www.genetex.com).

Fig.19 là ảnh huỳnh quang thể hiện trạng thái huỳnh quang tự động ở ung thư lành tính và ung thư, mà được quan sát trên chip plasmon theo sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Dưới đây, sáng chế theo các phương án của nó sẽ được giải thích có dựa vào các hình vẽ kèm theo.

Phương án 1

Như được thể hiện trên Fig.4, dung dịch nước chứa 1000ppm bạc thiosulfat được tạo ra và nhỏ 1 giọt lên tấm đồng phospho. Sau khi để bất động trong khoảng 3 phút, dung dịch trên tấm này được thổi, các tinh thể lượng tử thu được như được thể hiện trên ảnh SEM ở bên phải của Fig.4.

Fig.5 thể hiện các ảnh SEM khác nhau của sự kết tụ hạt nano đã được tạo ra trong Phương án 1 (tinh thể lượng tử) và Fig.6 thể hiện ảnh SEM phóng to của các hạt nano trong đó có tinh thể mảnh dạng cột 6 cạnh ở khoảng 100nm và có bề mặt không đều ở mức vài nm. Chúng ta có thể không tìm ra mặt đặc hiệu bất kỳ của tinh thể nano kim loại trong các tinh thể lượng tử. Fig.7 thể hiện sự tương quan giữa các hình dạng tinh thể lượng tử và thời gian để bất động sau khi nhỏ giọt lên chất đồng phospho, trong

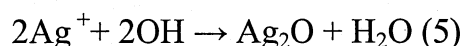
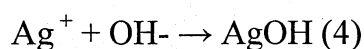
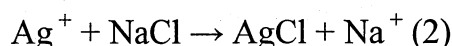
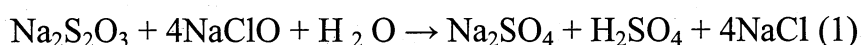
đó cần phải ghi nhận rằng trước tiên, tinh thể lượng tử 6 cạnh được tạo ra và sau đó lớn lên trong khi duy trì hình dạng tinh thể. Fig.8 là đồ thị thể hiện kết quả của quang phổ EDS (phân tích yếu tố) của các tinh thể lượng tử trong đó không chỉ bạc mà còn các yếu tố có nguồn gốc từ phức phối tử có thể được phát hiện trong trường hợp tinh thể lượng tử trên chất đồng phospho, trong khi chỉ có bạc có thể được phát hiện trong trường hợp các tinh thể lượng tử được tạo ra trên tấm đồng bằng cách sử dụng 1000ppm bạc thiosulfat dung dịch nước và giữ nó trong thời gian để bắt động là 3 phút sau khi nhỏ giọt lên nền đồng.

Bàn luận về sự tạo ra tinh thể lượng tử

Trong trường hợp 1000ppm phức bạc thiosulfat trong dung dịch nước, tinh thể dạng cột 6 cạnh ở khoảng 100nm, được tạo ra trong thời gian duy trì là 3 phút sau khi nhỏ giọt nó lên tấm đồng phospho, trong đó xác được rằng tính không đều ở mức vài nm được phát hiện trên các tinh thể lượng tử cột 6 cạnh từ các ảnh SEM (Fig.4, Fig.5 và Fig.6) và mặt đặc hiệu bất kỳ có nguồn gốc từ tinh thể nano kim loại là không phát hiện được, trong khi phân tích yếu tố EDS thể hiện bạc và các yếu tố có nguồn gốc từ phối tử tạo phức. Do đó, dựa vào phân tích trên đây có thể đánh giá được rằng toàn thể các hạt thể hiện tinh thể nano của phức bạc và cả hình thức không đều trên bề mặt có thể do sự tạo ra các chấm lượng tử mở rộng được tạo từ các bông bạc trong các phức gây ra. Từ dấu hiệu của hiện tượng mà các tinh thể lượng tử phức bạc theo sáng chế có thể được tạo ra trên tấm đồng phospho, trong khi các hạt nano bạc riêng có thể được lắng đọng trên chất đồng, đánh giá được rằng, do điện thế cân bằng của các phức bạc thiosulfat là 0,33 mà tương đương với thế điện cực đồng là 0,34, chỉ có sự lắng đọng của bạc với 0,80 trên chất đồng. Mặt khác, trong trường hợp tấm đồng phospho với thế điện cực là 0,22, mà hơi kém mạnh so với thế điện cực của đồng sao cho tinh thể phức bạc dường như có khả năng được kết tủa. Nồng độ của phức bạc ở dung dịch nước nên ở trong vùng pha loãng nằm trong khoảng từ 500 đến 2000ppm, 2) thế điện cực của nền kim loại khi xét đến điện thế cân bằng của dung dịch phức kim loại hơi kém mạnh, 3) phức kim loại nên được làm lắng bởi sự chênh lệch thế điện cực (hiệu số điện thế) giữa nền kim loại và phức kim loại. Hơn thế nữa, trong trường hợp ở 1000ppm của phức bạc thiourea trong dung dịch nước, có thể quan sát được cùng chức năng.

Trình bày đối với tinh thể meso của hợp chất bạc oxit: Phần 1

Nền tinh thể lượng tử được đưa vào xử lý nhỏ giọt 5% dung dịch natri hypoclorit trên đó và loại bỏ dung dịch được nhỏ giọt 2 phút sau đó để thu được tinh thể có các cấu trúc được thể hiện trên Fig.12, trong đó tinh thể dạng kim và vón cục lớn như khối dạng bóng bầu dục quan sát được và các chế phẩm tương ứng được đưa vào phân tích ở quang phổ EDS (phân tích yếu tố). Sau khi có kết quả phân tích, cả hai tinh thể dạng kim được cân nhắc được tạo ra từ tinh thể composit gồm bạc oxit và bạc clorua, dựa vào phương trình phản ứng sau và kết quả trên Fig.12 không thể hiện clo bất kỳ và thể hiện là bạc và oxy chiếm ưu thế.



Do đó, mặc dù đã xem xét rằng ion bạc và ion thiosulfat là quan trọng trong quá trình tạo ra tinh thể meso theo sáng chế bằng phản ứng oxy hóa kiềm với sự có mặt của ion clorua và, mặc dù bạc oxit được tạo ra theo phản ứng thông thường, ngạc nhiên là bạc peroxit được tạo ra chiếm ưu thế dựa vào phép đo XPS sau.

Bàn luận về tinh thể meso của hợp chất bạc oxit: Phần 2

Đo bằng XPS:

Bổ sung từng giọt natri hypoclorit trong nước trong 2 phút vào nền tinh thể lượng tử được tạo ra như trên đây, để làm cho nền tái kết tinh, mà được đưa vào phân tích XPS (sử dụng mô hình: ULVAC-PHI (Ltd.) / PHI5000 Versa Probe II (quét quang phổ điện tia X) mà không khác đối với Ag và O bằng cách đo XPS. Ngoài ra, để so sánh, đo Ag trong bột bạc clorua và bột bạc oxit. Mặt khác, nền tái kết tinh được đưa vào đo bằng XPS đối với Ag và O sau khi khắc trong 5 phút bằng súng bắn ion cụm khí argon. Nếu các kết quả đo XPS trên các hình vẽ Fig.13 và Fig.14 sẽ được kết hợp với các kết quả của EDS trên Fig.12, đỉnh trong vùng lân cận của 529eV là đỉnh thu được từ bạc peroxit (AgO), trong khi đỉnh trong vùng lân cận của 530eV là đỉnh thu được từ bạc oxit (Ag₂O). Hơn thế nữa, nếu nó được khắc, hàm lượng oxy giảm, trong khi đỉnh O thu được từ bạc peroxit (AgO) trong vùng lân cận của 529eV còn lớn hơn so với đỉnh thu được từ bạc oxit trong vùng lân cận của 530eV trong trường hợp khắc, sao cho nhận

biết được rằng bạc peroxit được sản xuất trong vùng lân cận của chất. Giả sử rằng, thế điện cực của nền và tác dụng xúc tác làm ảnh hưởng đến sự tạo ra tinh thể meso. Việc đo EDS được tiến hành trên nền tái kết tinh nêu trên bằng cách sử dụng JEOL Ltd. / JSM-7001F (phân tích hiển vi điện tử quét trường phát xạ).

Ngoài ra, thậm chí nếu dung dịch nước được chọn từ nhóm bao gồm axit hypoclorơ, natri hydroxit 0,01N, axit clohydric 0,01N và 0,1mol natri cacbonat sẽ được sử dụng, không thu được kết quả bất kỳ tương tự cần được xử lý bằng natri hypoclorit. Do đó, tin rằng sự tạo ra tinh thể dạng kim do phản ứng trên đây gây ra với sự có mặt của ion bạc và ion thiosulfat. Trong khi bạc oxit được khử thành dạng mang điện tích âm trong dung dịch nước, nó được khử bằng ánh sáng để làm lắng đọng kim loại bạc. Do bạc peroxit thể hiện rõ rệt hơn về xu hướng nêu trên so với bạc oxit, nó có thể hấp phụ chất liên quan đến ung thư có điện tích dương, dẫn đến sự xuất hiện hiệu quả cải thiện plasmon bề mặt giữa chất liên quan đến ung thư bẫy được và các hạt bạc.

Hơn thế nữa, theo sáng chế, chip plasmon cho phép phát hiện sự có mặt và không có mặt của chất liên quan đến ung thư và phân tích các yếu tố biến đổi hóa học mà kiểm soát việc sửa đổi lại chất nhuộm sắc bằng chẩn đoán ảnh và phân tích Raman của các mẫu sinh học bao gồm máu. Cụ thể, việc phát hiện và phân tích này có thể được tiến hành bằng các bước sau mà gồm có bước tạo ra chip plasmon có vùng tinh thể meso của bạc oxit chứa bạc peroxit (các hình vẽ Fig.9 và Fig.10) do composit tinh thể nano dạng kim của bạc oxit chứa bạc halogenua hoặc halogen và bước nhỏ giọt huyết thanh hoặc dung dịch mẫu sinh học lên vùng tinh thể nano dạng kim của chip plasmon, do đó có thể tiến hành việc hấp thụ theo cách chọn lọc chất liên quan đến ung thư có điện tích dương trong mẫu.

Chẩn đoán ảnh của tinh thể trên chip plasmon

Chất liên quan đến ung thư được hấp phụ được quan sát bằng kính hiển vi phản xạ (phóng đại 500 lần). Ảnh tinh thể của chất liên quan đến ung thư trong trường hợp ung thư lành tính, ung thư dạ dày và ung thư ruột kết được thể hiện trên (Fig.1 (a), (b) và (c)). Thông tin ảnh như vùng tinh thể của ảnh, thể tích, độ dài, độ rộng và tương tự có thể được số hóa và các số này được sử dụng cho biểu đồ. Việc quan sát ảnh với độ phóng đại 15.000 lần bằng kính hiển vi laze (VK-X250 hình dạng phân tích kính hiển vi laze, là sản phẩm của Keyence Corporation) được thể hiện trên Fig.2A, Fig.2B và

Fig.2C, trong đó có thể được quan sát sự chênh lệch giữa ung thư lành tính và ung thư dạ dày hoặc ung thư ruột kết. Việc vẽ đồ thị R, G và B trong biểu đồ, như được thể hiện trên Fig.2A, Fig.2B và Fig.2C, làm cho sự chênh lệch đỉnh liên quan rõ ràng đến vị trí và hình dạng giữa ung thư lành tính, ung thư dạ dày và ung thư ruột kết. Do đó, cần phải hiểu rằng, việc sử dụng chip plasmon được trang bị tinh thể meso chứa bạc peroxit làm cho có thể nhận diện sự có mặt của ung thư bằng cách bắt giữ theo cách chọn lọc chất liên quan đến ung thư trong máu. Hơn thế nữa, việc sử dụng kính hiển vi laze cùng tiêu điểm được ưu tiên, do ảnh lát cắt và sau đó thu được thông tin bên trong.

Chẩn đoán ảnh tự động huỳnh quang của tinh thể trên chip plasmon

Ngoài ra, huyết thanh thu được từ người bị ung thư lành tính (không giãn thực quản, khối u trung mô dạ dày, khối u lành tính tá tràng) và huyết thanh thu được từ người bị ung thư (ung thư dạ dày, ung thư ruột kết, ung thư tuyến tụy) được đưa vào chẩn đoán ảnh tự động huỳnh quang trên chip plasmon với kính hiển vi huỳnh quang. Cần phải hiểu rằng, việc nhận diện rõ ràng có thể được tạo ra giữa người bị ung thư lành tính và người bị ung thư, tùy thuộc vào huỳnh quang tự động có thể được quan sát hay không như được thể hiện trên Fig.20.

Phân tích tinh thể Raman trên chip plasmon

Tinh thể của chất liên quan đến ung thư được hấp phụ trên chip plasmon không thể được quan sát với mắt thường. Dưới kính hiển vi (500 lần), tinh thể khối quan sát được giống như các điểm phân phối (Fig.18). Phát xạ laze đến một trong các tinh thể khối (bước sóng 532nm) làm cho quang phổ Raman từ đó, trong đó nó có thể xác định ung thư với cường độ tán xạ Raman được cải thiện bề mặt (SERS). Fig.3 (a), (b) và (c) thể hiện quang phổ Raman thu được từ đó bằng cách phát xạ laze (bước sóng 532nm) cho trường hợp ở ung thư lành tính, ung thư dạ dày và ung thư ruột kết. Cụ thể, Fig.4 là hình phóng to của quang phổ Raman trong trường hợp của ung thư dạ dày, trong đó biến đổi hóa học của đuôi histon có thể xuất hiện làm đỉnh và có thể được xác định trong vùng được gọi là vùng vân tay từ 1300cm^{-1} đến nhỏ hơn 625cm^{-1} .

Chất liên quan đến ung thư trong huyết thanh, có thể bao gồm ADN mà quần quanh histon có nguồn gốc từ các tế bào ung thư, histon được quần quanh với ADN (được gọi là thể nhân) và cả chất nhuộm sắc (sợi) trong đó histon kết tụ và tạo ra cấu trúc dạng sợi. Được biểu thị rằng, chất cần được phát hiện theo sáng chế đường như là

chất liên quan đến ung thư khi cân nhắc sự tăng thể tích của chúng vì mặc dù globulin mang điện tích dương, globlin tăng lên đến tối đa 2 lần, trong khi chất liên quan đến ung thư tăng lên đến 100 lần cùng với sự tiến triển của ung thư. Hơn thế nữa, ADN được lấy ra từ tế bào bình thường, ADN được phân ly từ histon bằng cách axetyl hóa và albumin chiếm khoảng 60% huyết thanh, nhưng do việc mang điện âm của chúng, chúng sẽ không được hấp thụ hoặc được bắt giữ theo sáng chế. Do đó, có ưu điểm đối với ảnh hưởng quang của chất liên quan đến ung thư và là thuận tiện để phân tích biến đổi hóa học các đuôi histon bằng quang phổ Raman.

Hơn thế nữa, tinh thể nano dạng kim theo sáng chế (tinh thể meso của bạc oxit chứa bạc peroxit) dễ dàng mang điện tích âm ở dung dịch nước và tin rằng là để tạo ra phức chuyển điện tích khi tiếp xúc với mẫu (các phân tử đích). Hơn thế nữa, bạc oxit được khử bằng cách nhận năng lượng ánh sáng để được thay đổi thành kim loại bạc và sẽ làm cho có hiệu quả cải thiện cộng hưởng plasmon bề mặt cục bộ với các hạt nano kim loại được bố trí đều đặn. Do đó, tinh thể nano dạng kim theo sáng chế (tinh thể meso), mặc dù nó là phi kim loại, được tạo ra với tính chất kim loại cũng như tính chất ion hóa, mà là phù hợp đối với chip plasmon được sử dụng để đo tán xạ Raman được cải thiện bề mặt (surface-enhanced Raman scattering-SERS), làm chip chẩn đoán ung thư.

Mặt khác, các tinh thể lượng tử được tạo ra trên nền kim loại hoặc các hạt kim loại được tin rằng có khả năng có phân cực dương ở dung dịch nước làm tinh thể phức kim loại, do đó hấp phụ protein trong mẫu sinh học, xử lý bằng kiềm với sự có mặt của ion halogenua tốt hơn là điều chỉnh cực tính bằng cách nhỏ giọt dung dịch natri hypoclorit có độ pH = 11 hoặc lớn hơn, các tinh thể lượng tử có thể được tái kết tinh không chỉ có phân cực âm ở dung dịch nước, mà còn làm cho composit dạng kim của tinh thể nano bạc oxit bao gồm bạc peroxit, do đó sự bất động histon có điện tích dương có thể được xúc tiến làm chất liên quan đến ung thư.

Chẩn đoán ảnh của đuôi histon

Thể nhân là cụm kiến tạo cơ sở của chất nhiễm sắc, trong đó ADN được quấn vào octame histon bao gồm 4 histon (H2A, H2B, H3, H4) có vai trò bao gói ADN và cả vai trò điều hòa sự tiếp cận của ADN để đóng vai trò quan trọng trong điều chỉnh gen. Biến đổi sau phiên mã histon, kiểm soát sự tương tác với ADN và protein nhân khác tác

động đến sự biểu hiện gen đảo ngược. Là các dạng biến đổi histon, đã biết chủ yếu là metyl hóa, axetyl hóa, phosphoyl hóa, ubiquitin hóa, khử SUMO, xitruclin hóa và ADP-riposyl hóa. Trong trình tự của histon, tùy thuộc vào phần mà được đưa vào các biến đổi này, phần ngoại vi của biểu hiện gen được hoạt hóa hoặc bị ức chế. Sự tương quan giữa sự kết hợp các vị trí biến đổi sau phiên mã của histon và biểu hiện gen có thể được thử nghiệm và được khẳng định với các kháng thể được phối kết mã histon (kháng thể kháng histon của Genetex Inc.) và bằng quang phổ Raman cũng như việc quan sát trong ảnh huỳnh quang được biến đổi trạng thái của mã histon mà được bắt giữ bằng chip plasmon theo sáng chế và sau đó việc khẳng định giả thuyết mã histon có thể được tiến hành. Tiếp theo là phần mô tả giả thuyết mã histon.

Giả thuyết mã histon

Giả thuyết mã histon được đề xuất liên quan đến việc sửa đổi lại chất nhiễm sắc bởi nhóm tiến sĩ Alice của trường đại học tổng hợp Rockefeller. Cụ thể, việc sửa đổi lại chất nhiễm sắc được xác định là hiện tượng sau, mà được phối kết với cơ chế phân tử thông qua thay đổi về cấu trúc chất nhiễm sắc mà điều biến các mức biểu hiện của gen và với cảm ứng, 1) thay đổi về biến đổi histon, 2) thay đổi về trạng thái metyl hóa của ADN hệ gen, sau đó được phối kết với nó 3) hiện tượng trong đó thay đổi về vùng nhạy cao xuất hiện đối lại DNaza. Các tác giả sáng chế đã, dựa vào giả thuyết mã histon, làm sáng tỏ cơ chế phát triển ung thư, đã tiến hành nghiên cứu chuyên sâu, mà để làm chất liên quan đến ung thư, thể nhân và chất nhiễm sắc liên quan đến histon trước tiên được bắt giữ theo cách chọn lọc và sau đó đã nỗ lực để khẳng định điều này. Hầu hết ADN hệ gen được quấn trong histon lõi và được lưu trữ làm chất nhiễm sắc. Do đó, hiện tượng nhân mà trực tiếp khuyến khích ADN hệ gen thực hiện việc phiên mã, sao chép, sửa đổi và tương tự, được kết hợp bởi cấu trúc chất nhiễm sắc đã thay đổi theo cách nhất định. Trái lại, việc sửa đổi lại chất nhiễm sắc này theo nghĩa rộng là để kiểm soát hiện tượng nhân. Ví dụ, hoạt tính phiên mã thay đổi trong phạm vi lên đến khoảng 2500 lần, tùy thuộc vào cấu trúc chất nhiễm sắc. Do khoảng hoạt hóa của yếu tố phiên mã trong ADN trần là 10 lần, hầu hết việc kiểm soát phiên mã được thực hiện trong việc sửa đổi lại chất nhiễm sắc. Trong số các yếu tố có liên quan trong việc sửa đổi lại chất nhiễm sắc, yếu tố histon biến đổi như axetyl hóa, phosphoyl hóa, metyl hóa, ubiquitin hóa và việc thực hiện loại chúng, làm cho phía đầu tận cùng H3, H4 amino của histon tạo ra mẫu biến đổi hóa học. Mẫu biến đổi hóa học này tác động như mã nhận biết và sau đó

các yếu tố mà có liên quan hơn nữa trong sửa đổi lại được tuyển mộ. Điều này được gọi là "giả thuyết mã histon".

Sinh vật học cấu trúc được biết là đóng vai trò lớn cho việc khẳng định "giả thuyết mã histon" trong đó đuôi histon nhận biến đổi hóa học này dùng làm mã nhận biết như yếu tố sửa đổi lại. Ví dụ, hầu hết các HAT, yếu tố sửa đổi lại phụ thuộc ATP, các tác nhân đồng hoạt hóa, TAF yếu tố con của TFD, được tạo ra với tính tương đồng của vùng brom là thấp bao gồm khoảng 110 axit amin. Cấu trúc vùng bromo của tác nhân đồng hoạt hóa P / CAF được xác định bằng NMR, do đó các túi kỵ nước khác biệt được phát hiện ra. Các kết quả thực nghiệm gắn kết với NMR, thể hiện rằng, các túi được gắn kết vào các peptit của đuôi histon H3 được axetyl hóa. Ngoài ra, tinh thể cấu trúc được tạo ra với hai vùng brom được bố trí là kế tiếp của TAF 250, là đơn vị con lớn nhất của yếu tố phiên mã chung TFD. Cấu trúc này có hoạt tính gắn kết vào đuôi của histon H4, mà được biến đổi với việc axetyl hóa. ngoài ra, các vùng mang màu của protein chất đa nhiễm sắc 1 đã được thể hiện để gắn kết vào đuôi histon H3 được metyl hóa. Cấu trúc NMR của vùng mang màu của protein chất biến đổi nhiễm sắc ở chuột 1 đã được báo cáo. Yếu tố sửa đổi lại chất nhiễm sắc này có thể tiếp cận trực tiếp đến các vị trí thể nhân đặc hiệu bằng các mã nhận biết đuôi histon với vùng brom. Yếu tố sửa đổi lại chất nhiễm sắc này thường được tuyển mộ gián tiếp bằng yếu tố phiên mã gắn kết ADN. Chất kìm hãm phiên mã Mad có bHLH (vòng xoắn cơ sở-vòng xoắn)-Zip làm vùng gắn kết ADN, tuyển mộ phức Sin3 chứa histon deaxetylaza làm cơ cấu phụ thành chất nhiễm sắc. Phức của vùng PAH2 và vùng kìm hãm phiên mã của Mad Sin3 được phân tích bằng NMR và cơ chế tuyển mộ cho vùng chất nhiễm sắc của phức khử axetyl hóa được trình bày.

Tin rằng việc metyl hóa ADN liên quan sâu rộng trong kiểm soát cấu trúc chất nhiễm sắc này. Ở vị trí ADN hệ gen mà việc metyl hóa ADN được thấy ở mật độ cao, thông thường cấu trúc chất nhiễm sắc trở nên mạnh, việc giảm chặn phiên mã và tốc độ đột biến ADN quan sát được. Đã có thông báo rằng, các mẫu metyl hóa và hòa đồng hệ gen của ADN hệ gen, việc bất hoạt nhiễm sắc thể X và ung thư hóa tế bào có sự tương quan rõ ràng với nhau (xem tài liệu phi sáng chế 1). Do đó, có thể nói rằng, cấu trúc phân tích của histon và chất nhiễm sắc giữ vai trò chủ đạo để giải thích bối cảnh của ung thư, do đó việc phân tích các yếu tố biến đổi hóa học của các đuôi histon có dấu ấn lớn. Do histon và chất nhiễm sắc có thể được hấp thụ hoặc được bắt giữ theo cách chọn

lọc theo sáng chế, không chỉ là phương tiện cho trạng thái biến đổi hóa học được đánh dấu huỳnh quang của mã histon mà còn là phương tiện cho quang phổ Raman được cải thiện bề mặt (SERS) có thể được đề xuất.

Tái cấu trúc chất nhiễm sắc

Trong khi ADN hệ gen là thân của chất gen là loại dài 2m ở người, mà được nằm trong khoảng trống nhỏ bằng 100 femtolit của phần được gọi là nhân tế bào. Việc lưu trữ ADN hệ gen này có thể được hoàn thiện bằng phức phân tử được gọi là "chất nhiễm sắc". Cấu trúc cơ bản của chất nhiễm sắc là "thể nhân" trong đó protein histon được quấn quanh bởi ADN và thể nhân này được tạo hạt và được gấp hơn nữa được gắn kết ở mức cao vào protein và ARN để tạo ra "chất nhiễm sắc ở mức độ cao hơn". Tuy nhiên, việc tháo gỡ ADN ra khỏi chất nhiễm sắc, cần phải có năng lượng lớn, do đó chất nhiễm sắc bị ức chế đến việc biểu hiện chức năng của ADN, như sao chép, phiên mã và tái tổ hợp. Nhưng sinh vật, thông qua sự thay đổi mạnh của chất nhiễm sắc, rất dễ dàng tạo ra sao chép, phiên mã và tái tổ hợp. Điều này có nghĩa là "cấu trúc chất nhiễm sắc động" này được sản xuất bằng tính đa dạng cấu trúc thể nhân bằng việc thay đổi và biến đổi histon, có nhiều cách bố trí của nó và tương tác của phức giữa protein và phân tử ARN, trong khi nó được kiểm soát bằng tương tác của cấu trúc nhân tế bào, màng nhân và phức lỗ xóp ở nhân. Để giải thích hiện tượng này, ADN của sinh vật nhân chuẩn, được gắn kết chặt vào protein histon được tổng hợp trong thân để tạo ra thể nhân và vòng xoắn của thể nhân tạo nên cấu trúc chất nhiễm sắc. Trong trường hợp của histon và ADN được kết hợp chặt chẽ, ARN polymeraza khó gắn kết vào ADN. Mặt khác, khi việc chuyển khỏe lên, cấu trúc chất nhiễm sắc trở nên rời lỏng và histon từ thể nhân được giải phóng ra để cho ADN trần. Trái lại, khi việc chuyển được chặn, cấu trúc thể nhân là rắn trong khi chất nhiễm sắc được tập hợp lại. Việc tái cấu trúc hoặc tái kết cấu của cấu trúc chất nhiễm sắc là để chỉ việc sửa đổi lại chất nhiễm sắc được mô tả trên đây nhưng chất tăng cường xúc tác và chất tăng cường xúc tiến phiên mã và tăng cường biểu hiện gen. Một trong số các vai trò này là để rời lỏng sự gắn kết của histon và ADN, đôi khi phá hủy cấu trúc thể nhân, mà xúc tiến tổng hợp ARN bằng ARN polymeraza. Cụ thể, trên đuôi histon ở đầu của protein histon được dịch mã, có mặt nhiều axit amin bazơ (điện tích dương). Axit amin bazơ gắn kết tĩnh điện vào ADN của nhóm phosphat (mang điện âm). Để rời lỏng sự gắn kết của histon và ADN có thể làm giảm độ kiềm của histon để trở nên yếu. Việc điều hòa phiên mã bằng cách sửa đổi lại

chất nhiễm sắc thực tế được tạo bởi phản ứng phức, trong đó nhiều dạng enzym và protein có liên quan trong các yếu tố phiên mã gắn kết vào chất tăng cường xúc tác và chất tăng cường, gắn kết vào enzym axetyl hóa histon (HAT: histon axetyltransferaza) mà là enzym dùng để axetyl hóa ở nhóm amino của histon. Nhóm amino được axetyl hóa làm giảm tính kiềm mà dẫn đến làm yếu việc gắn kết vào ADN. Sau bước này, việc phân ly của histon với ADN tiến triển hơn nữa và việc axetyl hóa của histon càng tiến triển hơn, dẫn đến để lộ chất tăng cường xúc tác mà làm cho dễ dàng kết hợp với ARN polymeraza. Do đó, quan trọng là bày chất liên quan đến ung thư trong dịch thể như thế nào và phân tích nó như thế nào để để làm sáng tỏ cơ chế của việc sửa đổi lại chất nhiễm sắc dựa vào giả thuyết mã histon.

Với chip plasmon theo sáng chế, việc bày histon và chất nhiễm sắc làm chất liên quan đến ung thư, sự có mặt hoặc không có mặt của triệu chứng ung thư có thể được phân xét bằng ảnh huỳnh quang tùy thuộc vào thể tích của tinh thể. Sau đó, triệu chứng ung thư đến từ cơ quan bất kỳ và ung thư tiến triển như thế nào có thể được xác định bằng cách phân tích yếu tố sửa đổi lại và biến đổi hóa học của các đuôi histon. Và tất cả thông tin liên quan đến ung thư xuất hiện như thế nào và ung thư tiến triển như thế nào thông qua các trường hợp sửa đổi lại chất nhiễm sắc này, giúp cho bác sĩ có thể báo trước tác nhân hóa trị liệu đặc hiệu một cách chính xác và còn thiết kế hợp lý hóa trị liệu dựa vào hiểu biết về tính nhạy với hóa chất của khối u.

Ở đây, protein của chất liên quan đến ung thư đáng quan tâm được phát hiện là histon được bao quanh bởi ADN. Cấu trúc đơn vị được gọi là thể nhân và cấu trúc dạng sợi được tạo từ thể nhân hợp lại được gọi là chất nhiễm sắc (sợi). Và, trong thời gian lặp lại sự phân chia tế bào ung thư, biến đổi metyl hóa làm cho ADN quấn quanh histon không đến từ gen tòi (gen chặn khối u). Thông thường, histon thể hiện điện tích (+), trong khi ADN thể hiện điện tích (-), sao cho histon và ADN dính vào nhau như nam châm và việc metyl hóa cải thiện được cởi nút, trong đó ADN quấn quanh histon mang điện tích (+) (xem Fig.8 (a)). Mặt khác, việc axetyl hóa làm cho nó mang điện tích (-), do đó axetyl hóa histon làm cho ADN mang điện tích (-) và histon (-) đẩy lẫn nhau. Khi đó, 'dải sợi' của ADN có cơ chế biểu hiện của gen không được quấn từ histon (xem Fig.8 (b)). Do đó, tốt hơn là, để hấp phụ theo cách chọn lọc chất liên quan đến ung thư thu được từ các tế bào ung thư, chất cần được hấp phụ mang điện tích (-) do histon được quấn quanh bởi ADN mang điện tích (+).

Khả năng ứng dụng trong công nghiệp

Do đó, theo sáng chế, chất liên quan đến ung thư trong máu và các mẫu sinh học có thể được phát hiện theo cách chọn lọc thông qua huỳnh quang tự động bằng tác dụng cải thiện plasmon cục bộ. Hơn thế nữa, còn có thể xác định sự tồn tại của ung thư đơn giản thông qua kính hiển vi huỳnh quang vì chất liên quan đến ung thư với tính đa dạng của các nhãn huỳnh quang có thể được bắt giữ theo cách chọn lọc. Hơn thế nữa, do trạng thái biến đổi hóa học của các đuôi histon có thể được phát hiện dựa vào quang phổ Raman của tinh thể có hoặc không có nhãn, còn có thể tiến hành việc phát hiện sớm ung thư và xác định như đối với sự tiến triển của ung thư. Do đó, tổng quan về cách sử dụng theo sáng chế là như sau.

(1) Chip plasmon được trang bị tinh thể lượng tử bạc

Huỳnh quang tự động không xuất hiện trên chip plasmon bằng cách nhỏ giọt kháng thể hoặc kháng nguyên. Việc quan sát ảnh huỳnh quang có thể được phát hiện bằng cách gắn thuốc nhuộm huỳnh quang hoặc protein huỳnh quang vào chất đích. Trong trường hợp nội độc tố, việc gắn kết huỳnh quang vào nội độc tố được khẳng định bằng quang phổ tán xạ Raman, do đó có thể được phân biệt rõ ràng hơn bằng cách gắn nhãn huỳnh quang. Do đó, 1) khi chất huỳnh quang được gắn vào phía kháng thể, việc bổ sung hỗn hợp dung dịch gồm phức kim loại và kháng thể bổ sung từng giọt trên chip plasmon theo sáng chế cho phép quan sát phát xạ ánh sáng với kháng nguyên được gắn kết vào kháng thể. Mặt khác, 2) khi chất huỳnh quang được gắn vào phía kháng nguyên, việc bổ sung từng giọt kháng thể làm cho các tinh thể lượng tử thành pha rắn, mà có thể được đo bằng cách phát ra huỳnh quang do phản ứng kháng nguyên-kháng thể.

(2) Chip plasmon được trang bị tinh thể meso của bạc

1) khi chất huỳnh quang được gắn vào phía kháng thể của tinh thể meso của bạc, việc làm bất động của kháng thể (với loại được ghi nhãn) trên tinh thể meso và việc bổ sung từng giọt kháng nguyên làm cho nó có thể đo huỳnh quang do việc gắn kết kháng nguyên với kháng thể. 2) khi chất huỳnh quang được gắn vào phía kháng nguyên, việc làm bất động của kháng nguyên (với loại được ghi nhãn) trên tinh thể meso và việc bổ sung từng giọt kháng thể làm cho nó có thể đo huỳnh quang do việc gắn kết kháng thể với kháng nguyên. 3) Đo bằng huỳnh quang tự động. Trong trường hợp này, còn có thể gắn nhãn huỳnh quang.

(3) Kiểm tra vị trí tinh thể trên chip plasmon bằng ảnh huỳnh quang

Việc phân tích quang phổ Raman được tiến hành thông qua quang phổ tán xạ Raman bằng cách dễ dàng phát xạ laze lên tinh thể.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chip plasmon bao gồm vùng chứa tinh thể meso gồm có tinh thể nano của bạc oxit chứa bạc peroxit, trong đó tinh thể meso có khả năng có chức năng tạo ra phân cực âm khi tiếp xúc với các huyết thanh hoặc các mẫu sinh học để bắt giữ hoặc hấp thụ theo cách chọn lọc chất liên quan đến ung thư có phân cực dương và có chức năng thể hiện hiệu ứng cộng hưởng plasmon bề mặt cục bộ bằng cách bức xạ ánh sáng.
2. Phương pháp quan sát chất liên quan đến ung thư bao gồm việc tạo ra chip plasmon mà có vùng chứa tinh thể meso chứa tinh thể nano của bạc oxit chứa bạc peroxit, trong đó phương pháp này bao gồm bước nhỏ giọt huyết thanh hoặc tự mẫu sinh học hoặc trạng thái được pha loãng lên vùng tinh thể của chip plasmon, để tạo ra phân cực âm khi tiếp xúc với huyết thanh hoặc mẫu sinh học nhờ đó bắt giữ theo cách chọn lọc hoặc hấp phụ chất liên quan đến ung thư trong huyết thanh hoặc mẫu này và quan sát ảnh chất liên quan đến ung thư được cải thiện bằng cách cộng hưởng plasmon bề mặt cục bộ.
3. Phương pháp quan sát chất liên quan đến ung thư theo điểm 2, trong đó chất liên quan đến ung thư là thể nhân hoặc chất nhuộm sắc bao gồm histon được bao quanh bởi ADN.
4. Phương pháp quan sát chất liên quan đến ung thư theo điểm 3, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước phát xạ ánh sáng laze lên thể nhân hoặc chất nhuộm sắc bao gồm histon được bao quanh bởi ADN.
5. Chip plasmon theo điểm 1, trong đó chip này được dùng để quan sát chất liên quan đến ung thư trong đó tinh thể meso chứa tinh thể nano của bạc oxit chứa bạc peroxit là tinh thể dạng kim được tạo ra từ tinh thể lưỡng tử phức bạc bằng cách xử lý bằng kiềm.

Fig.1A

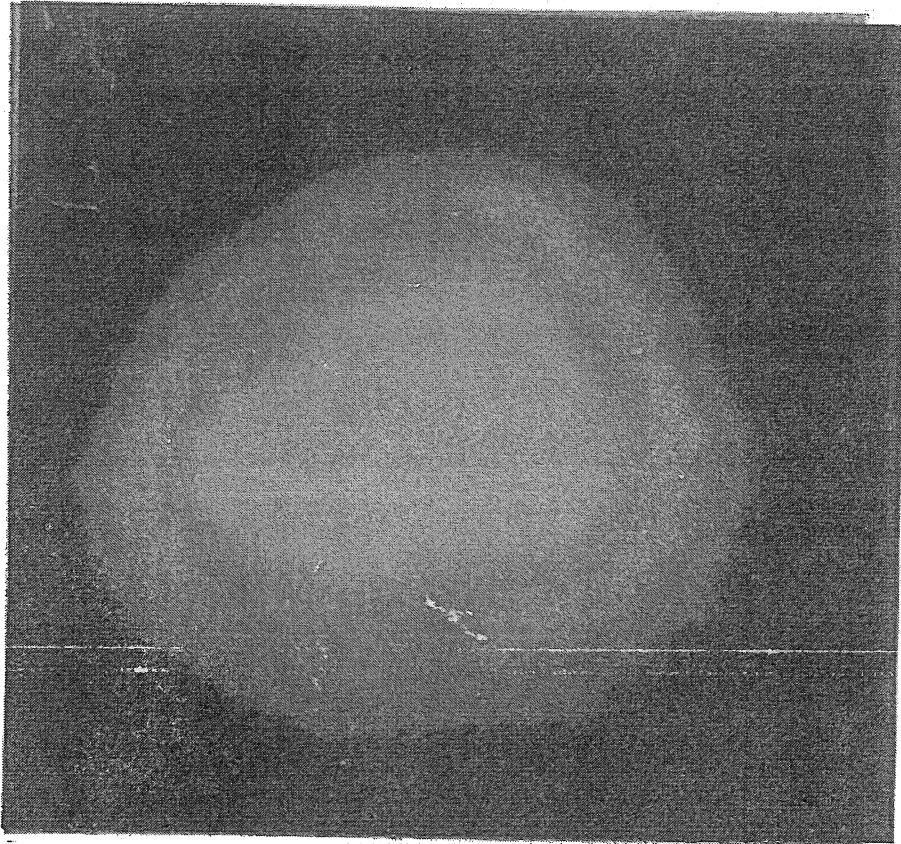


Fig.1B



Fig.1C

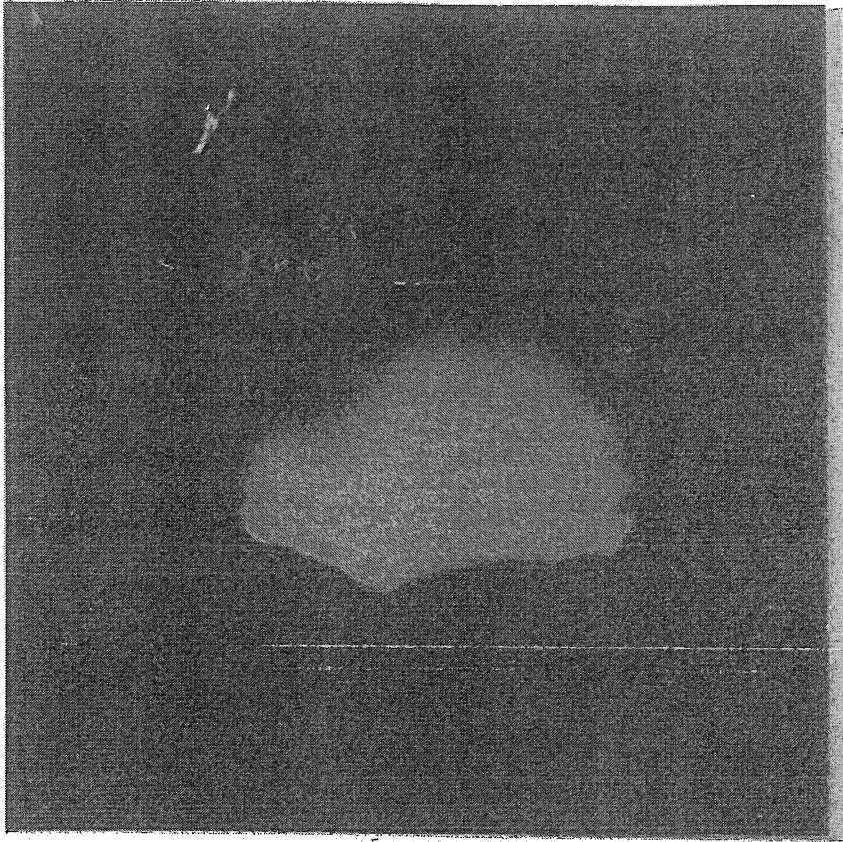


Fig.2A

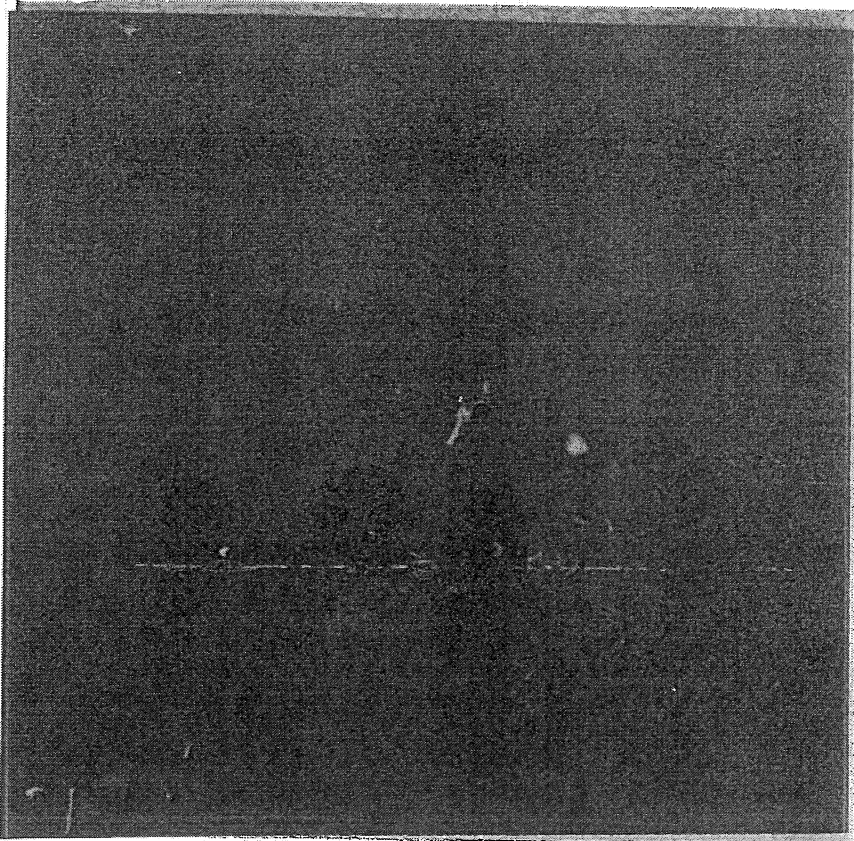


Fig.2B

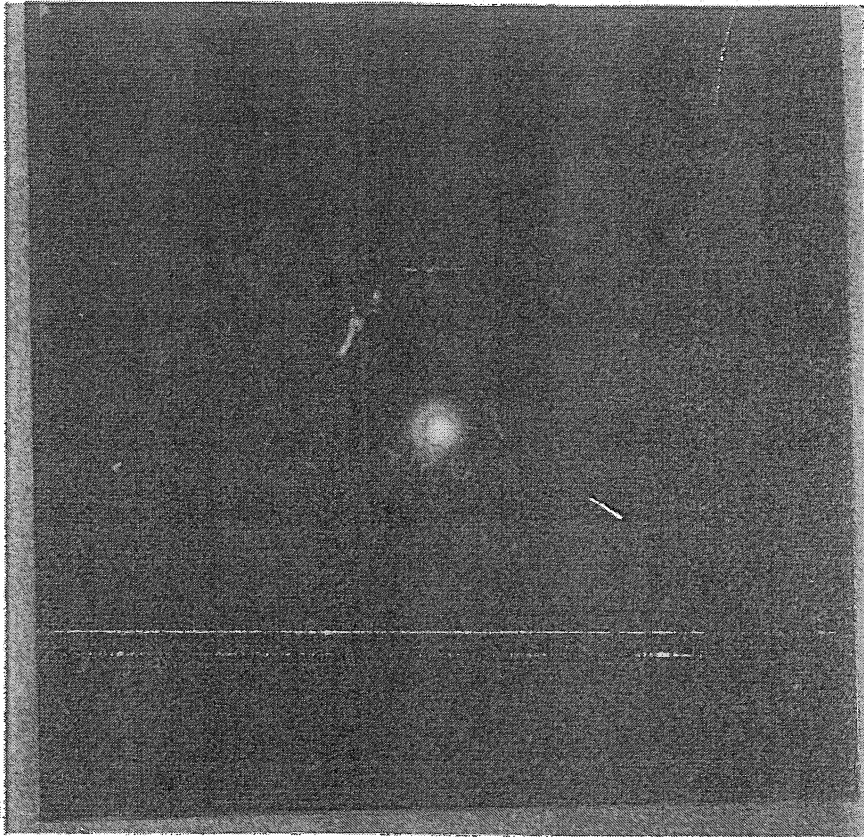


Fig.2C

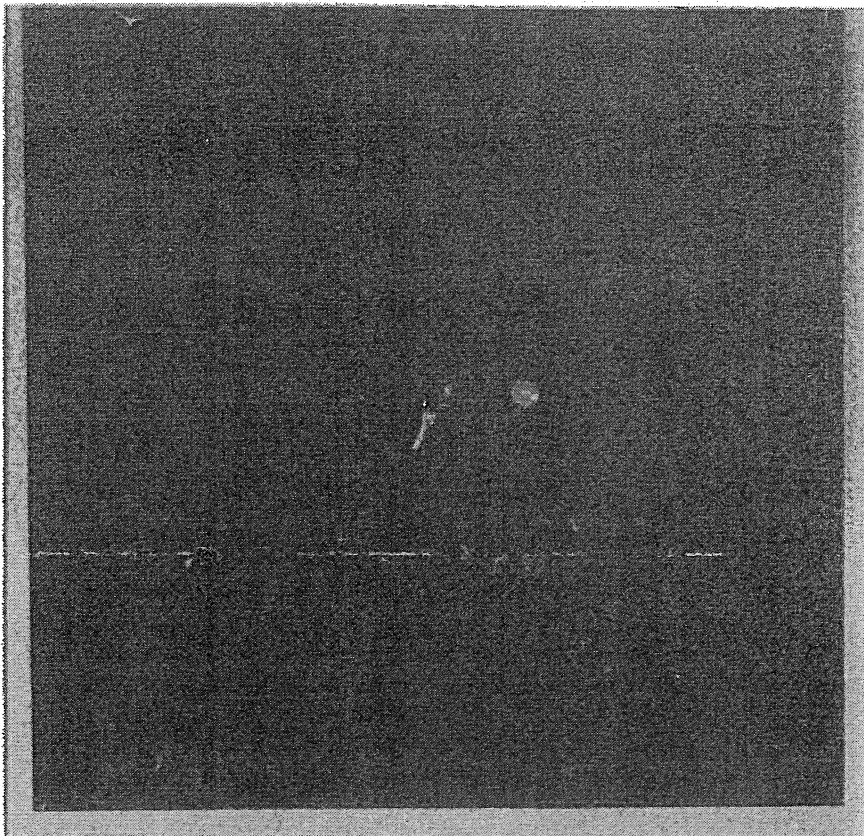


Fig.3

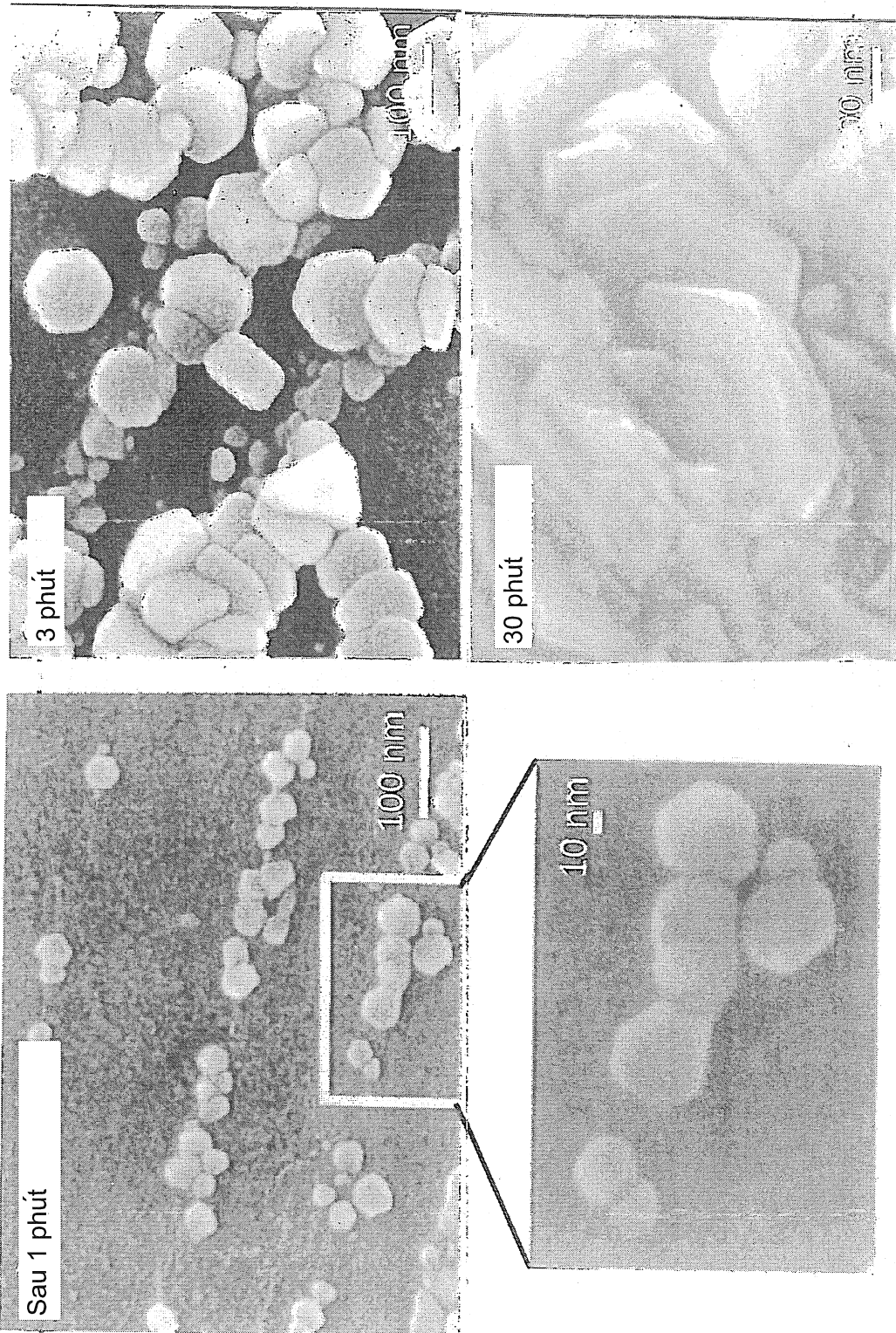


Fig.4

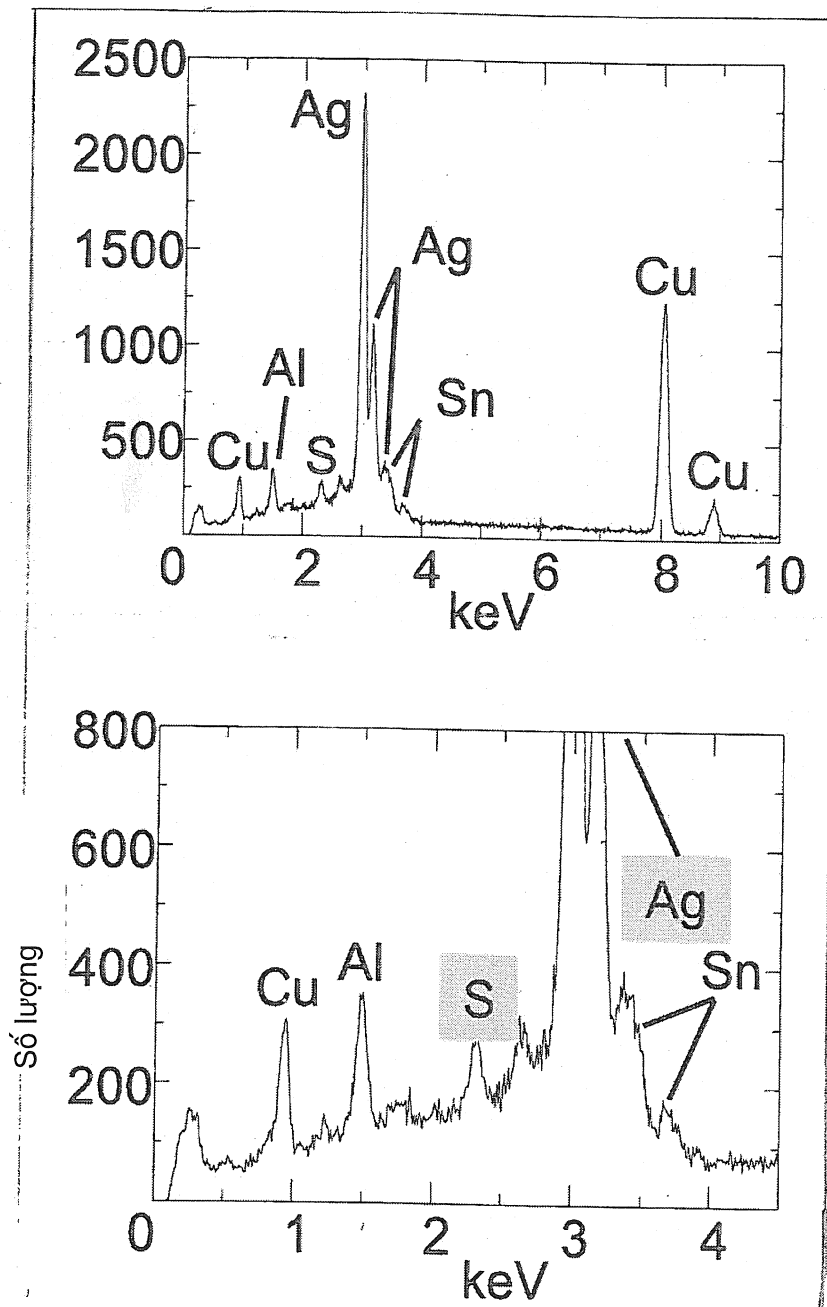
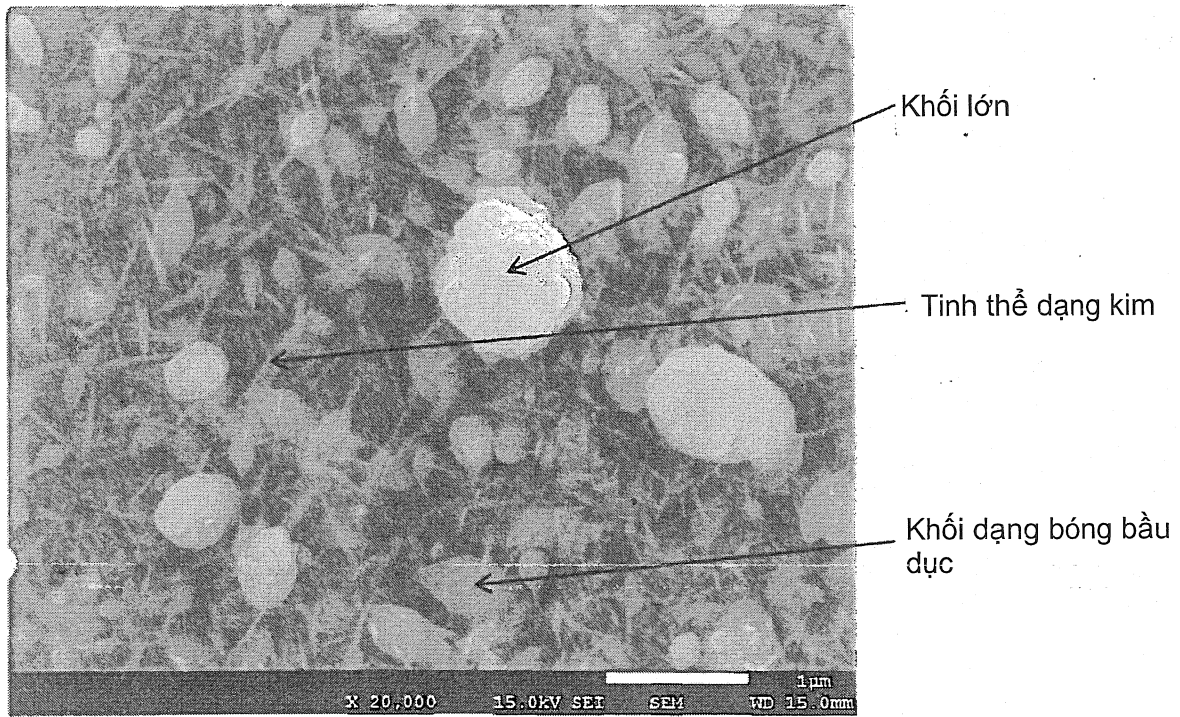


Fig.5



Được tạo ra bởi Masafumi Fukuzumi ở trung tâm kỹ thuật công nghiệp Hyogo

Fig.6A

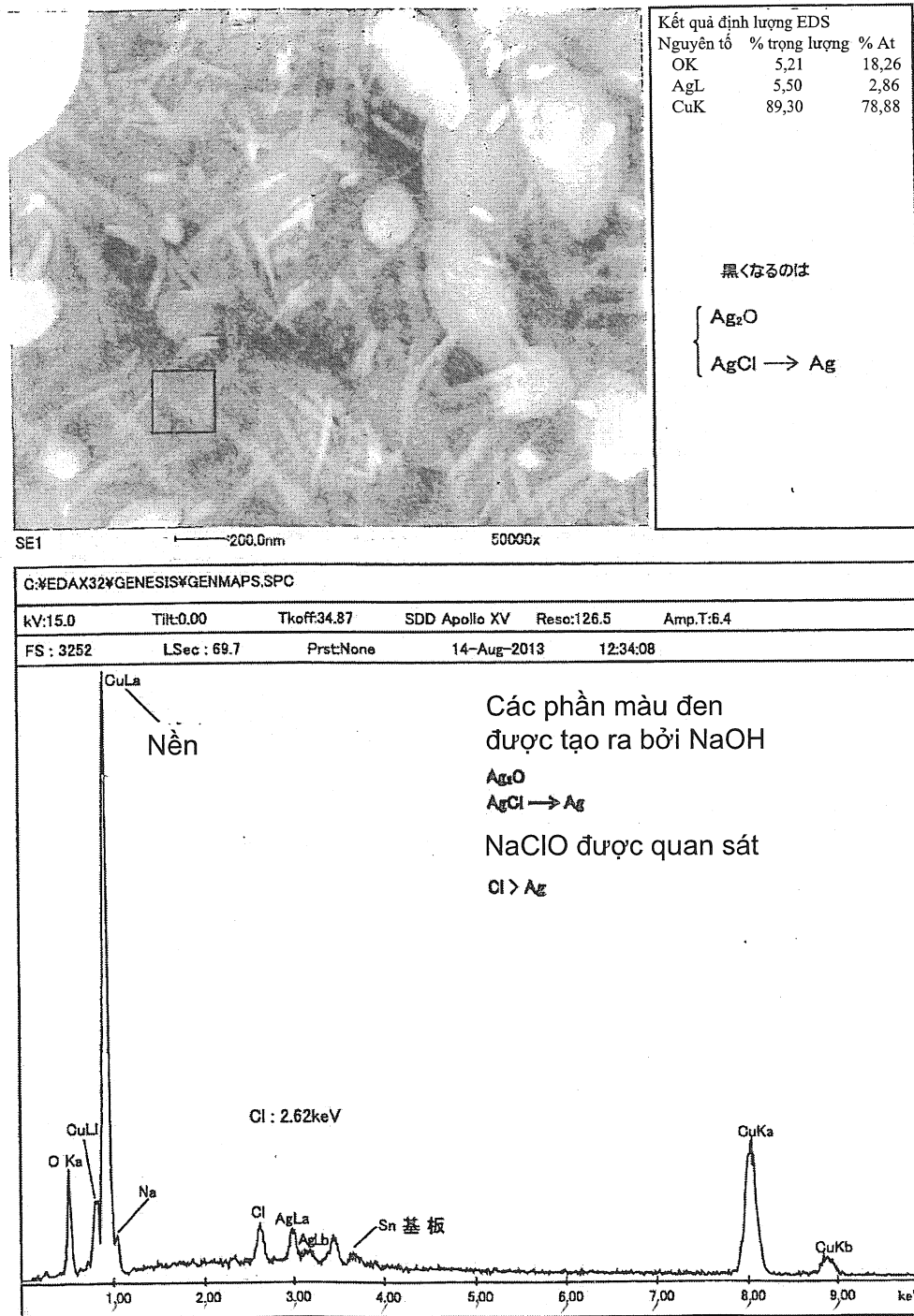


Fig.6B

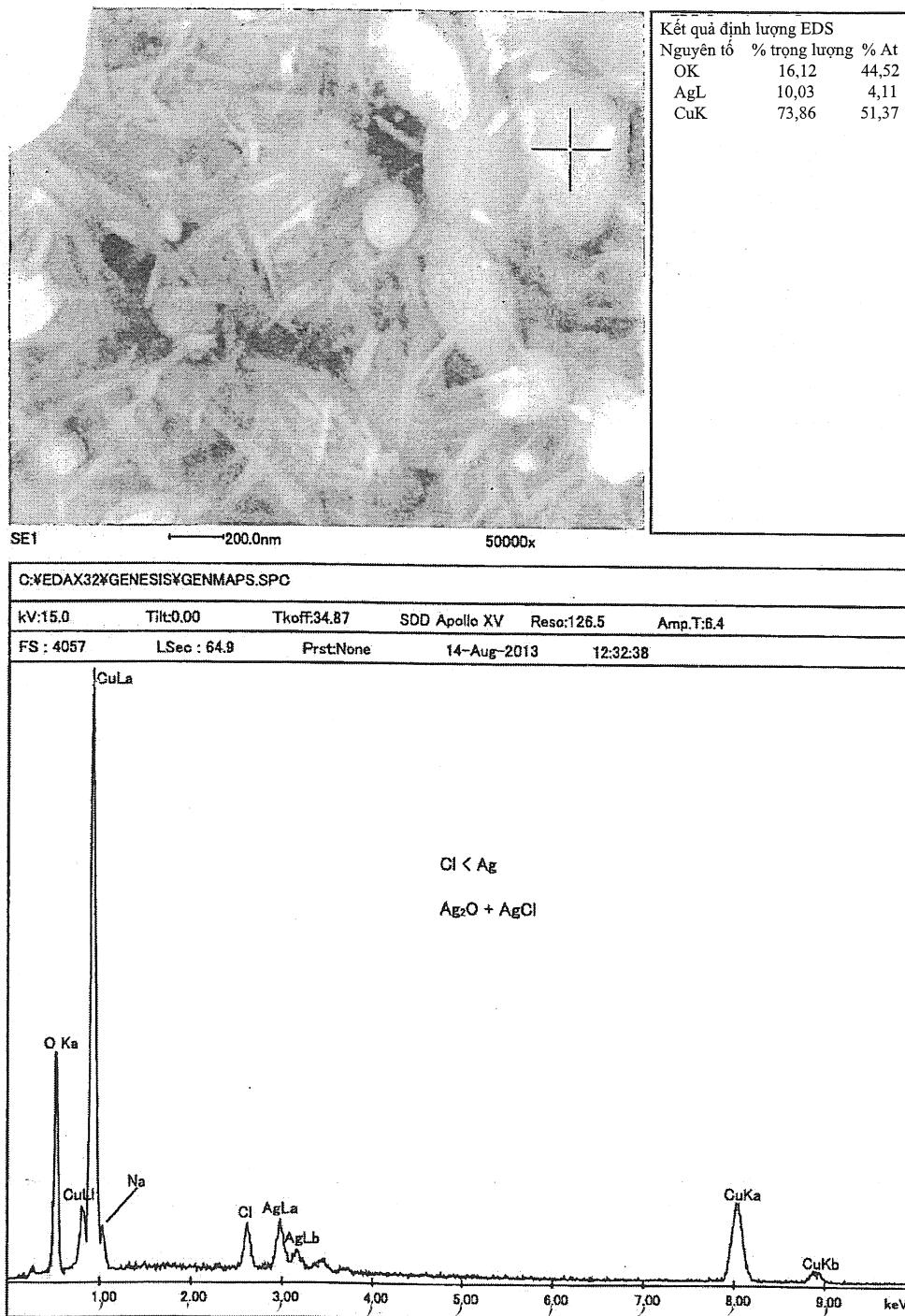


Fig.6C

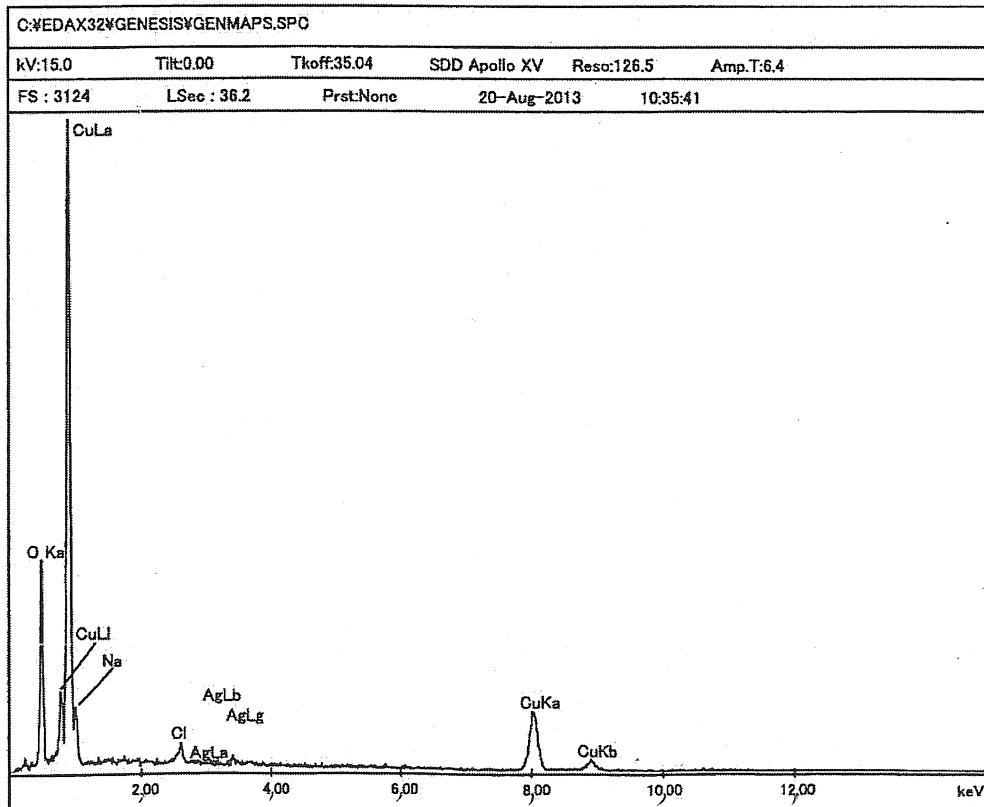
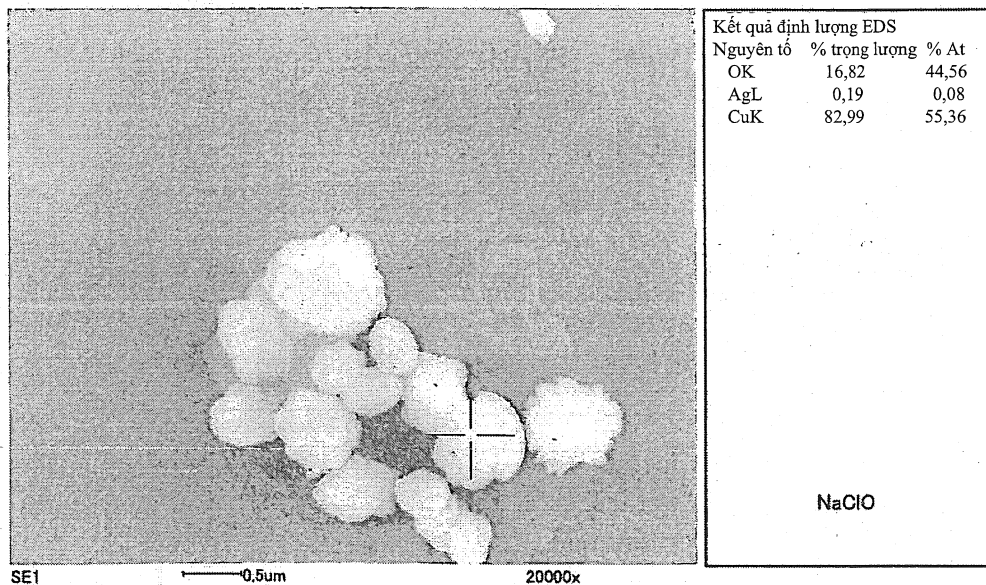


Fig.7

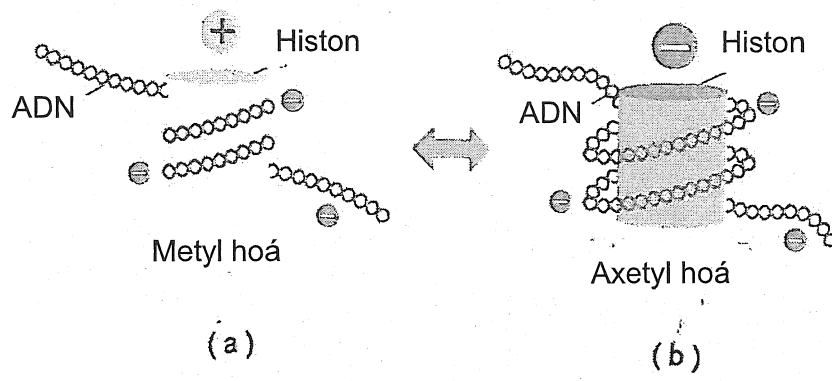


Fig.8

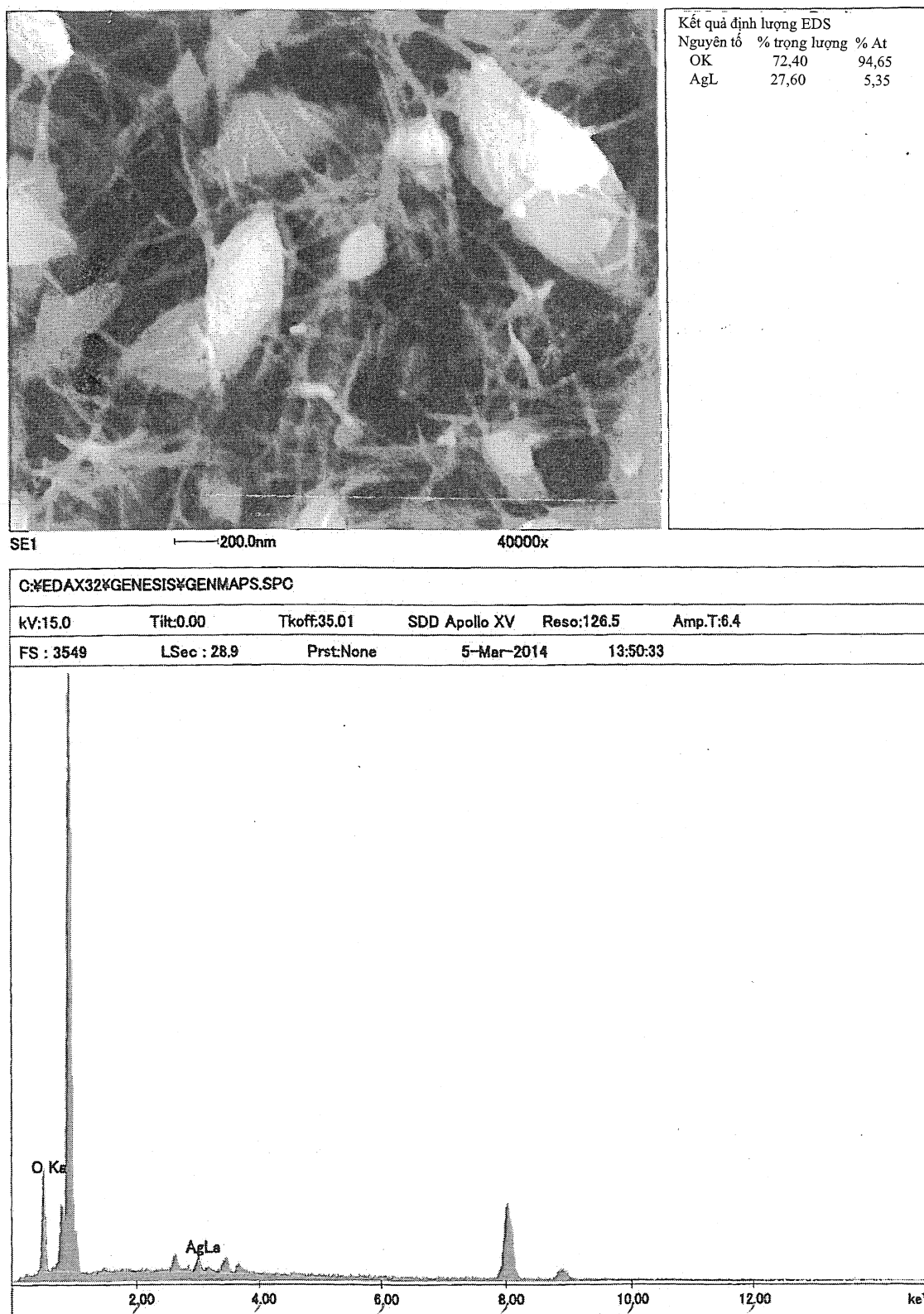


Fig.9

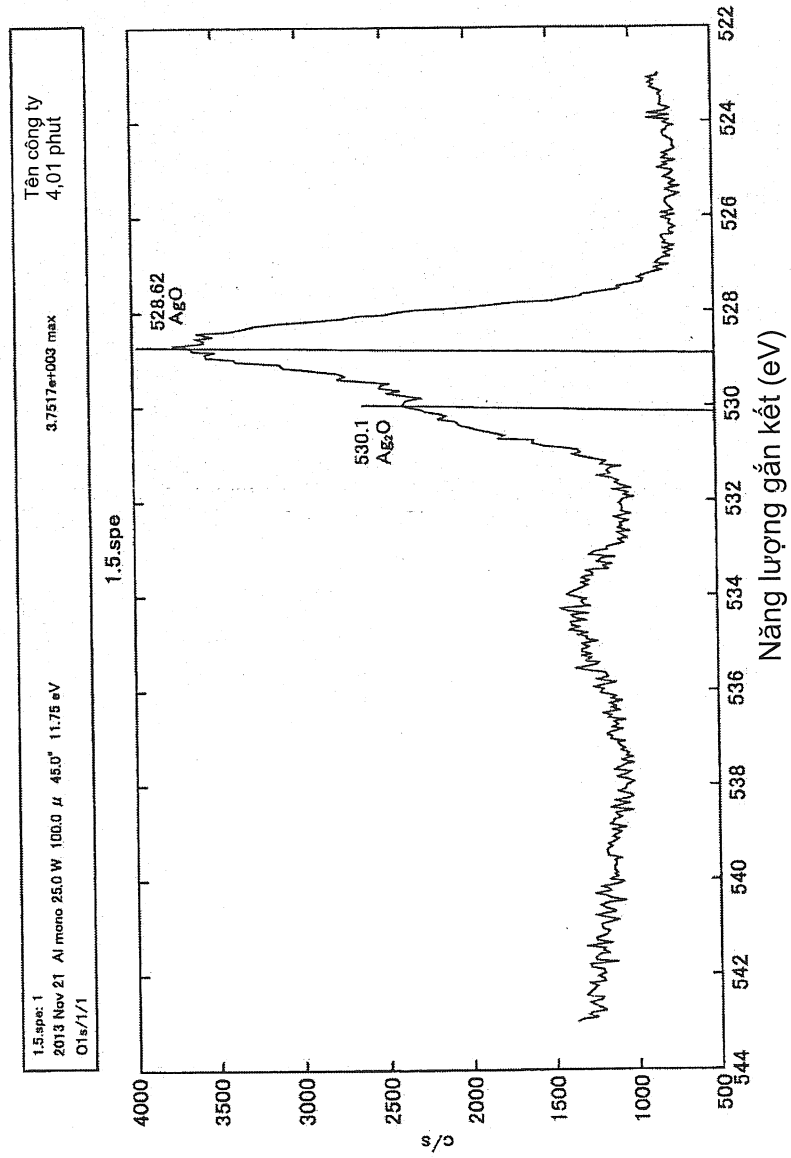


Fig.10

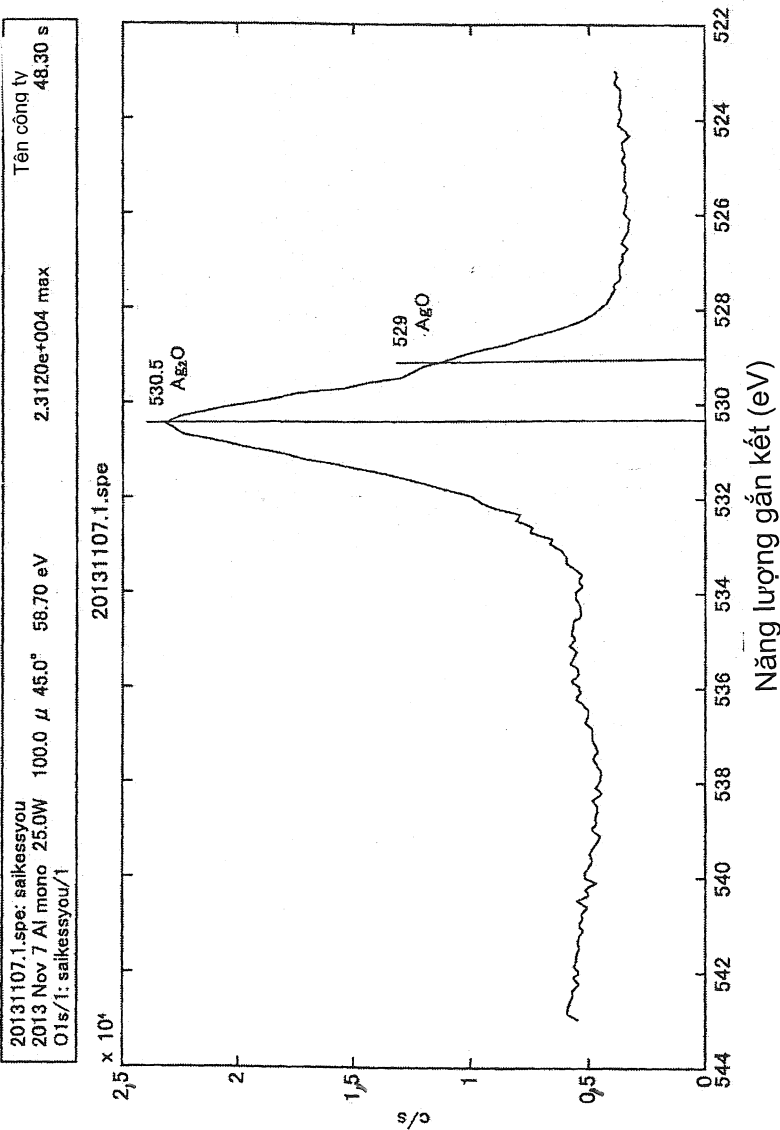
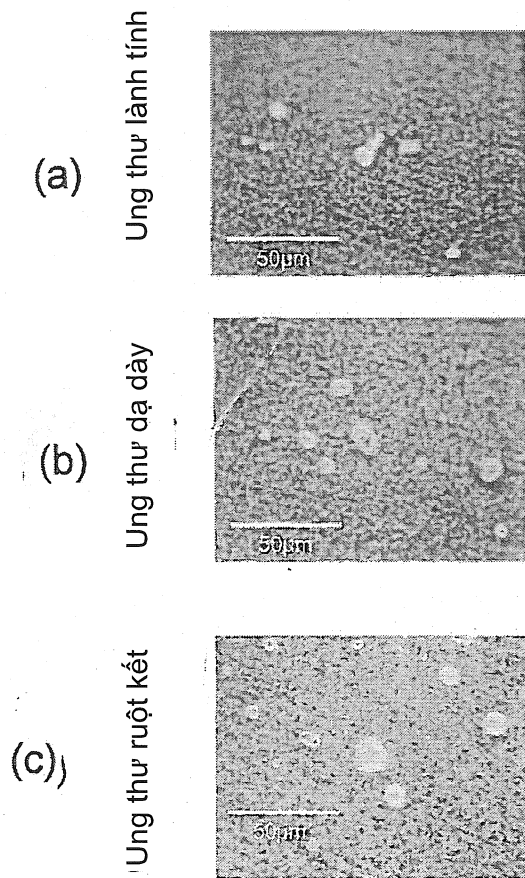


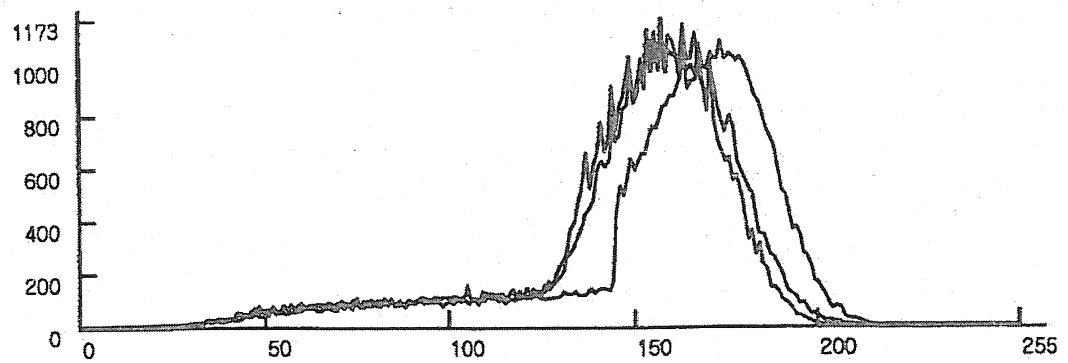
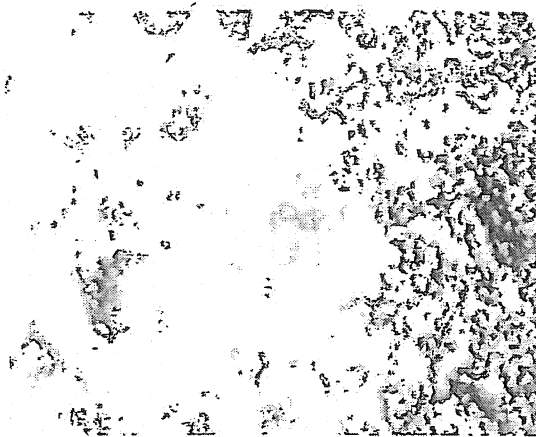
Fig.11



Ảnh huỳnh quang của chất liên quan đến ung thư

Phóng đại: 500 lần

Fig.12A

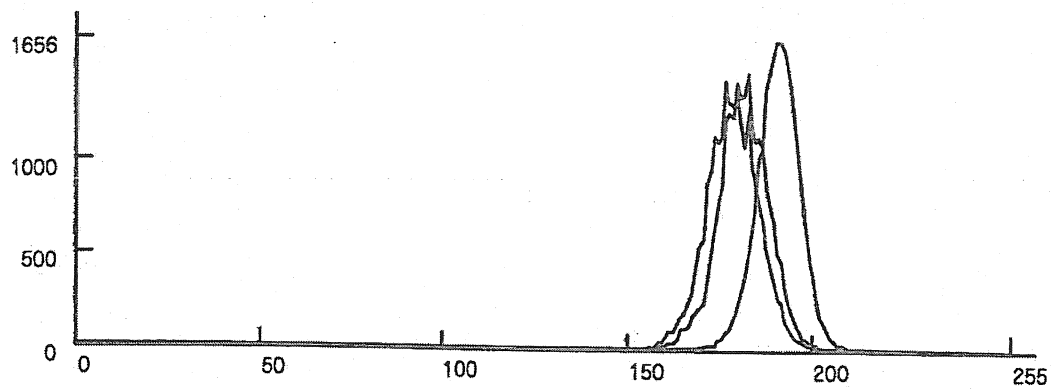
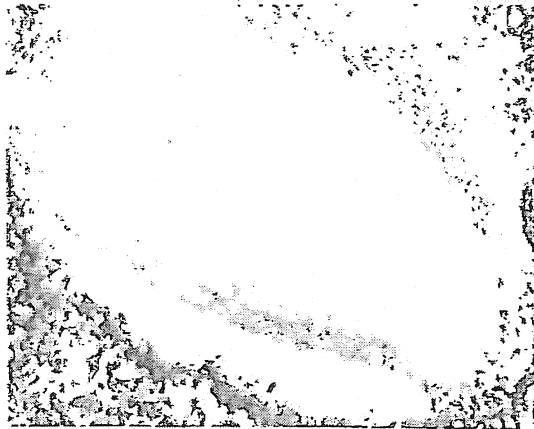


	Vùng	Tốc độ vùng	Trung bình	Tối đa	Tối thiểu	SUM	SD	3σ	Bình luận
Tổng cộng	153888	100,00%	151,86	214	24	23389644	31,18	93,48	
Phần 1									
Phần 2									
Phần 3									
Phần 4									
Phần 5									
Phần 6									
Phần 7									
Phần 8									
Phần 9									
Phần 10									

Ảnh cần được đo: La-ze + màu

Biểu đồ (RGB)

Fig.12B

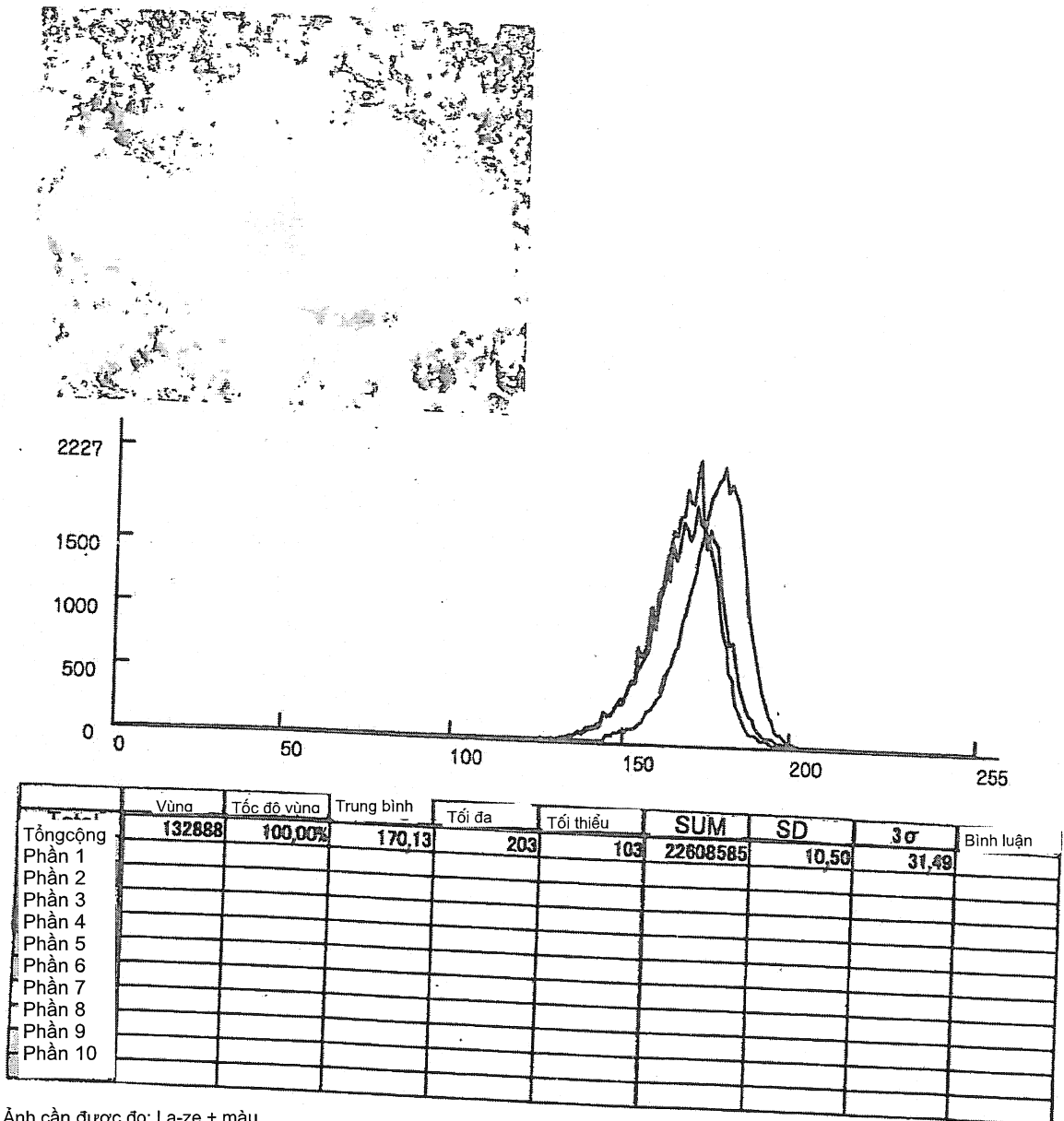


	Vùng	Tốc độ vùng	Trung bình	Tối đa	Tối thiểu	SUM	SD	3σ	Bình luận
Tổng cộng	68856	100,00%	183,07	207	167	12605279	6,43	19,30	
Phần 1									
Phần 2									
Phần 3									
Phần 4									
Phần 5									
Phần 6									
Phần 7									
Phần 8									
Phần 9									
Phần 10									

Ảnh cần được đo: La-ze + màu

Biểu đồ (RGB)

Fig.12C



Ảnh cần được đo: La-ze + màu

Biểu đồ (RGB)

Fig.13

Phương pháp đo SERS của huyết thanh

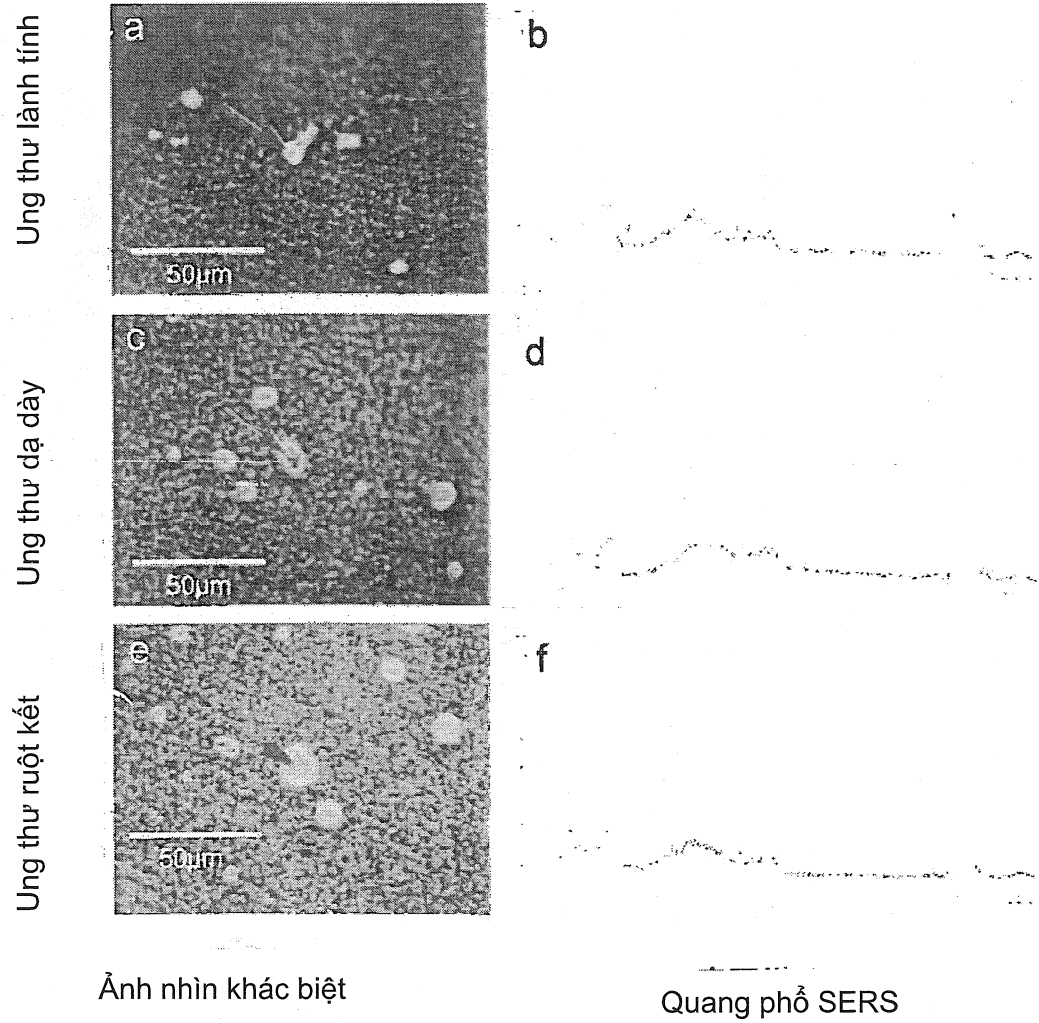


Fig.14

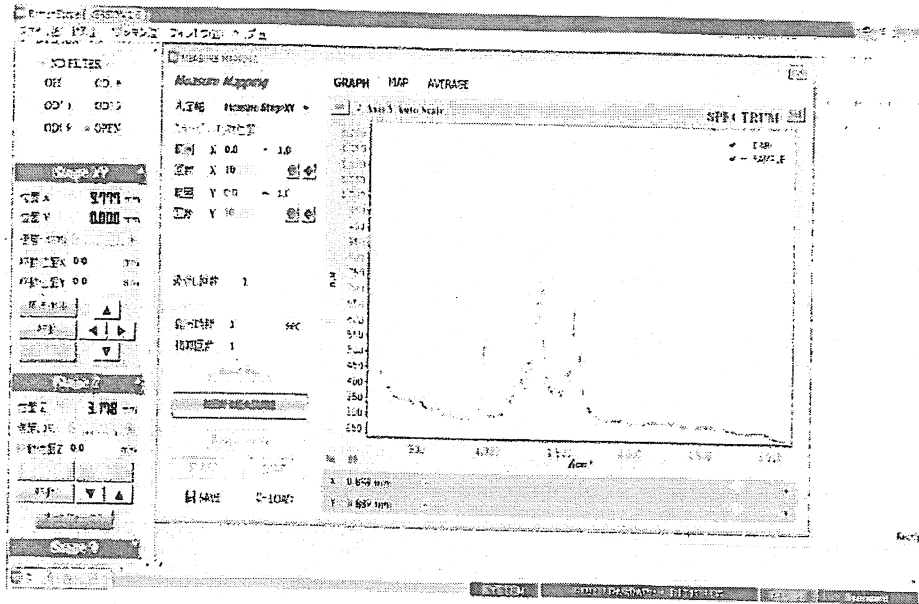
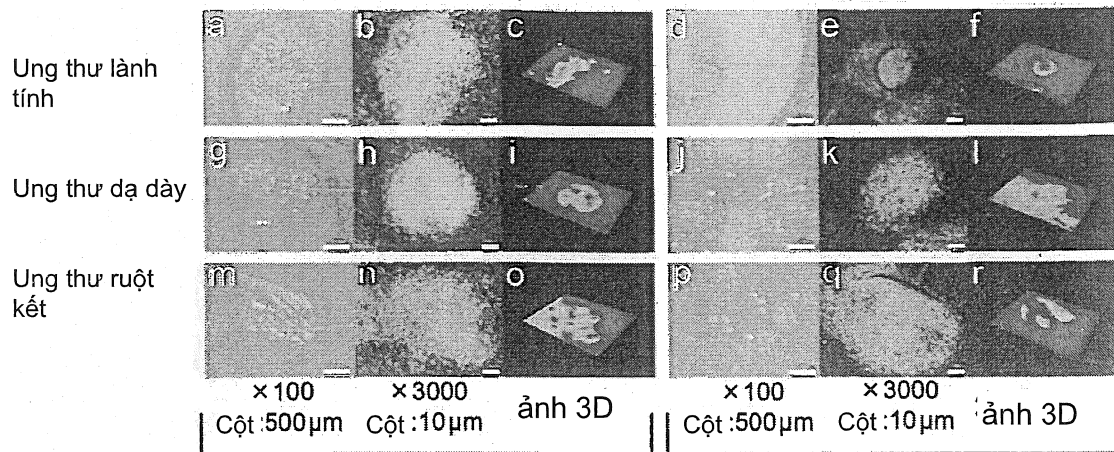
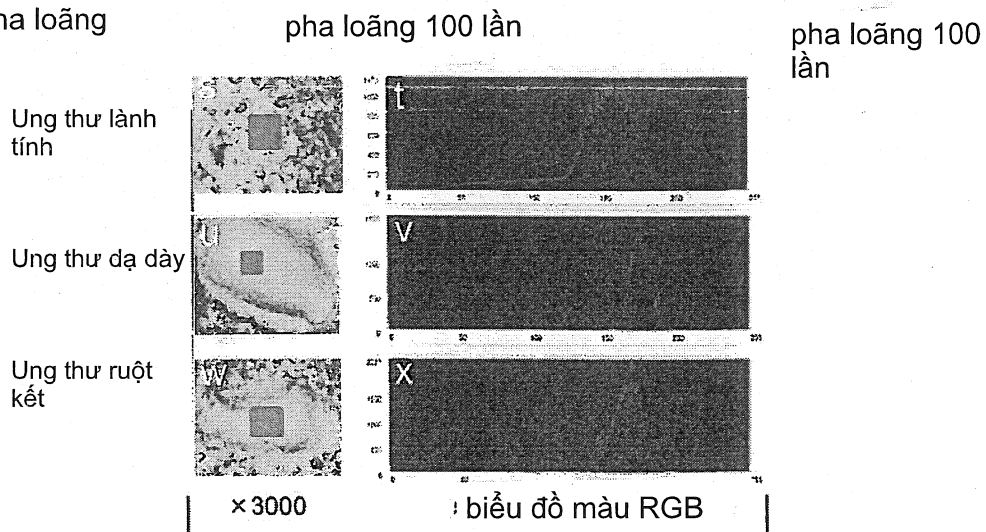


Fig.15

Phân tích cấu hình bề mặt trên chip plasmon (huyết thanh của người bệnh)



Pha loãng



Pha loãng

pha loãng 100 lần

Fig.16

Phân tích cấu hình bề mặt của tế bào ung thư được nuôi cấy trên chip plasmon

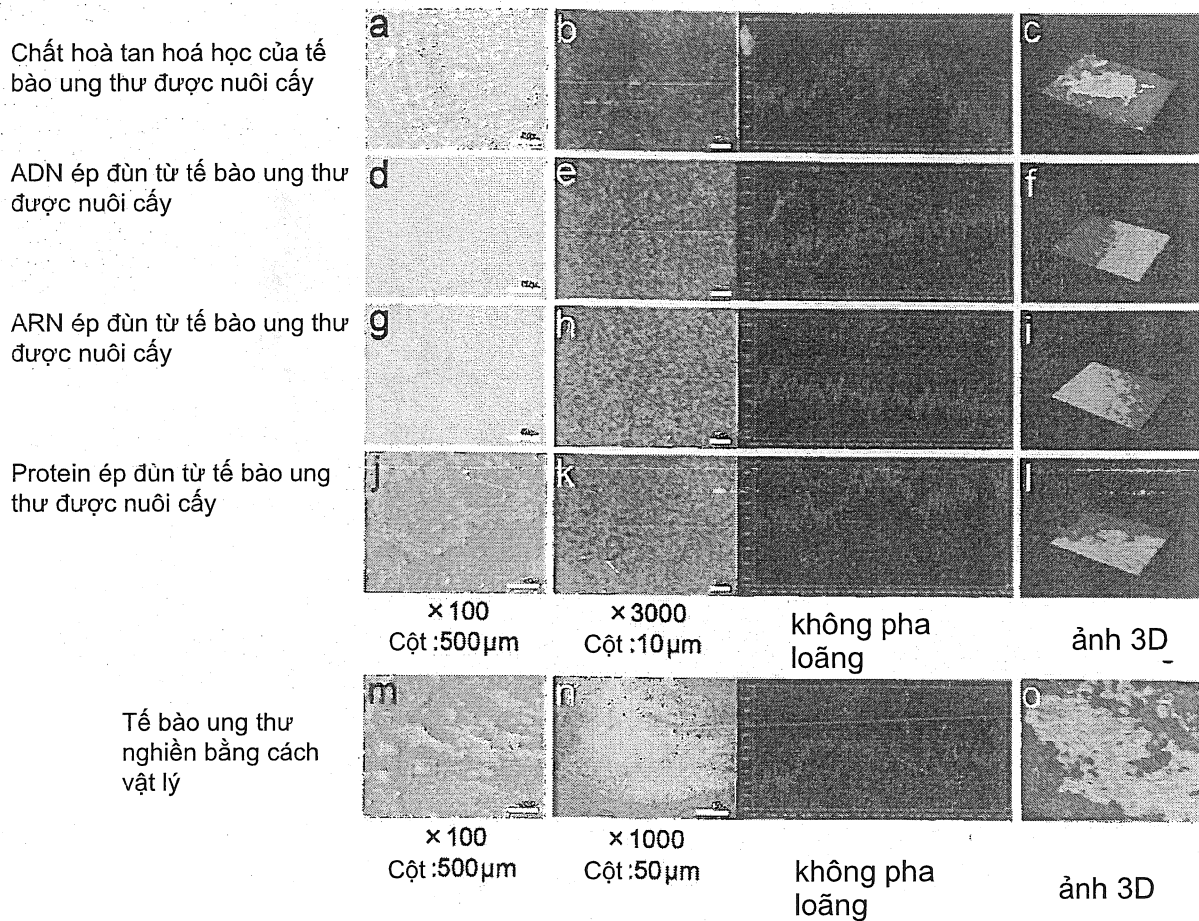


Fig.17

Quang phổ tán sắc Raman

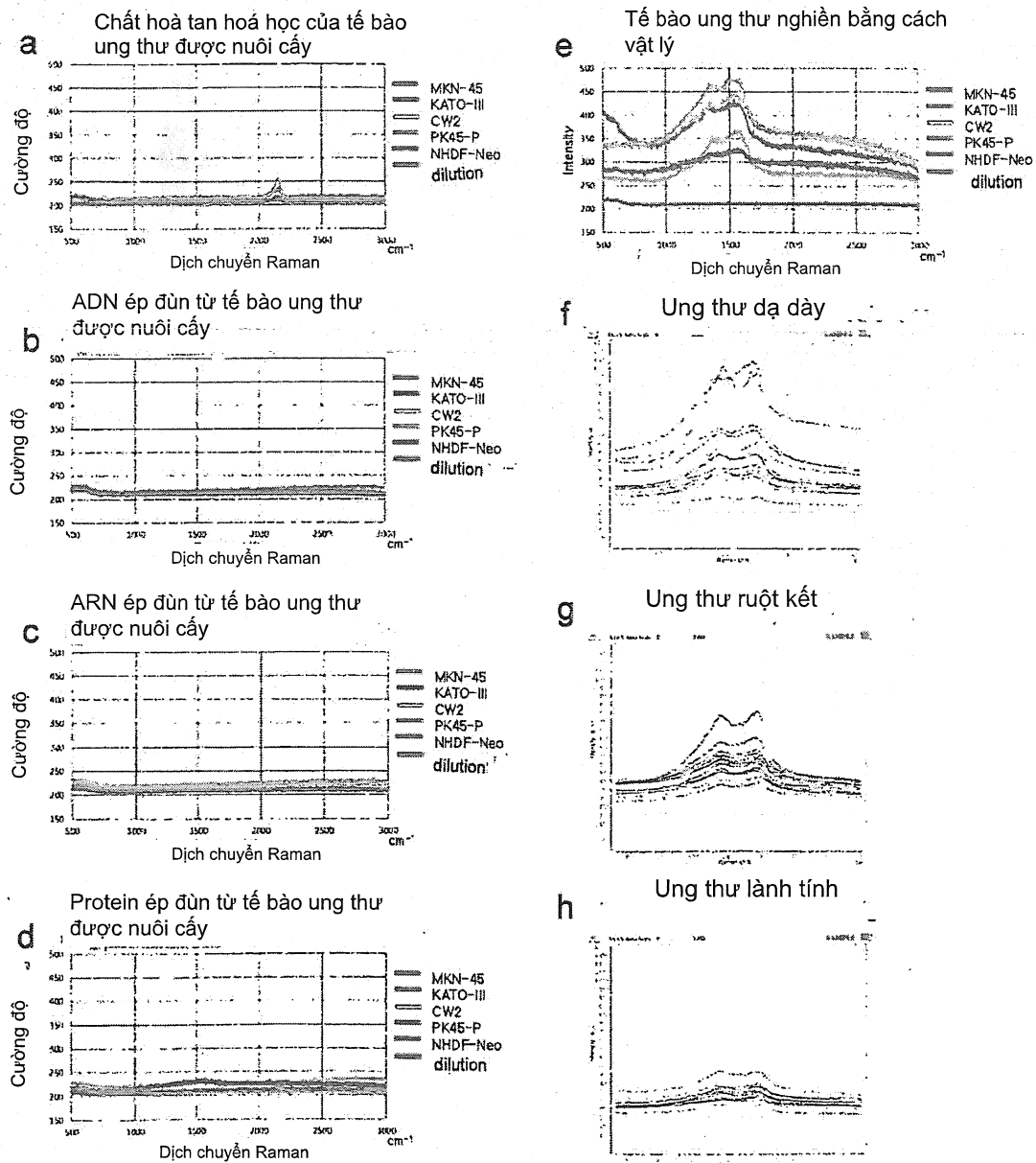


Fig. 18

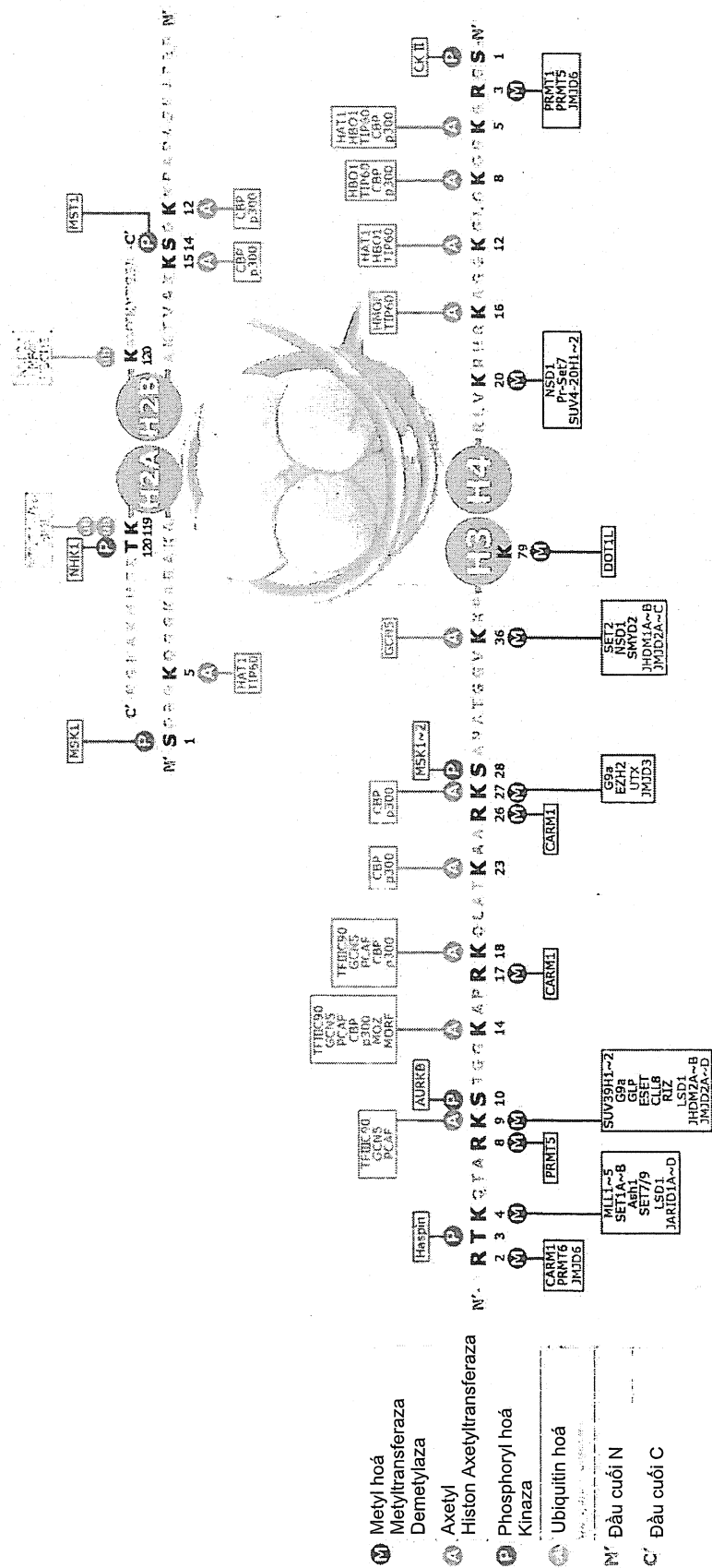


Fig.19

Ảnh huỳnh quang tự động trên chip plasmon

