



(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)



1-0052321

(51)^{2022.01} G01N 1/40

(13) B

(21) 1-2023-06044

(22) 08/09/2023

(45) 27/10/2025 451

(43) 25/04/2024 433

(73) Đại học Bách khoa Hà Nội (VN)

Số 1, Đại Cồ Việt, Quận Hai Bà Trưng, thành phố Hà Nội

(72) Phạm Văn Sáng (VN); Đặng Văn Trường (VN).

(54) THIẾT BỊ TẬP TRUNG CHỈ DẤU SINH HỌC BẰNG CƠ CHẾ PHÂN CỰC ION
VỚI MÀNG TRAO ĐỔI ION ĐẶT NGHIÊNG

(21) 1-2023-06044

(57) Sáng chế đề cập đến thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bằng cơ chế phân cực ion với màng trao đổi ion đặt nghiêng, trong đó: vi kênh chứa mẫu và vi kênh đệm được chế tạo bằng vật liệu không truyền dẫn ion có chiều dài 10 - 50 mm, chiều cao 10 - 100 μm , chiều rộng 100 - 500 μm ; màng trao đổi ion làm bằng vật liệu dẫn ion, được đặt nghiêng một góc 10° - 12° có chiều dài 50 - 500 μm ; các bể chứa mẫu có đường kính 0,5 - 200 mm; các điện thế 50 - 100 V và 25 - 50 V được đặt vào các điện cực cao thế và hạ thế, trong khi đó các điện cực đặt trong các bể chứa đệm có đường kính 0,5 - 200 mm được nối với đất. Áp suất tại cửa vào của vi kênh chứa mẫu có giá trị $P = 0,9 - 1 \text{ kPa}$.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực kỹ thuật cơ khí và y sinh. Cụ thể, sáng chế đề cập đến việc tính toán, thiết kế, và chế tạo thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bằng cơ chế phân cực ion với màng trao đổi ion đặt nghiêng phục vụ cho việc chẩn đoán sớm các bệnh liên quan. Trong đó, thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bao gồm hai vi kênh đệm và một vi kênh chứa mẫu được nối với nhau bằng màng trao đổi ion đặt nghiêng. Thiết kế mới này đảm bảo điện trường sinh ra trong vi kênh chứa mẫu đủ lớn để nâng cao hiệu quả tập trung của các phân tử sinh học trong xét nghiệm bệnh lý liên quan.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Trong nhiều năm gần đây, phân tích sinh học được nghiên cứu chuyên sâu để ứng dụng trong chẩn đoán các bệnh lý khác nhau. Một số phân tử sinh học được sử dụng như các chỉ dấu sinh học cho các bệnh cụ thể, bao gồm axit nucleic không tế bào (DNA), RNA thông tin (mRNA) và microRNA (miRNA), axit nucleic cụ thể khối u tuần hoàn (DNA khối u tuần hoàn ctDNA và ctRNA), exosomes, và các tế bào khối u tuần hoàn. Những phân tử sinh học này được biết đến là các chỉ số hiệu quả để chẩn đoán sự hiện diện của một căn bệnh tiềm ẩn ngay khi nồng độ của chúng thay đổi nhỏ. Ví dụ như exosomes là những túi màng với kích thước 30-150 nm và được tiết ra từ nhiều loại tế bào khác nhau dưới dạng chất lỏng như nước tiểu, nước bọt và huyết tương. Bởi vì exosomes chứa nhiều chỉ dấu sinh học, chẳng hạn như axit nucleic ngắn (mRNA và miRNA) và protein nên chúng giành được sự quan tâm nghiên cứu trong vài năm gần đây về chẩn đoán bệnh trong theo dõi tiến triển ung thư, di căn và hiệu quả của thuốc. Các exosomes có thể điều chỉnh hoạt động sinh lý của các tế bào đích bằng cách sử dụng các cơ chế khả thi, ví dụ, bằng độ bám dính có độ đặc hiệu cao tới bề mặt tế bào đích thông qua các phân tử kết dính và các thụ thể hiện diện trên bề mặt của chúng, dẫn đến kích hoạt thụ thể và tín hiệu xuôi dòng trong tế bào đích, hoặc bằng cách hợp nhất trực tiếp với các tế bào đích, dẫn đến việc truyền thông tin exosome (mRNA, miRNA, protein và các phân tử tín hiệu). Do đó, phân tích hàm

lượng RNA ngoại vi có thể cung cấp một nguồn phong phú các chỉ dấu sinh học tiềm năng để phát hiện ung thư sớm và theo dõi bệnh.

Tuy nhiên, cho đến nay, không có công nghệ nào có thể thực hiện việc xác định và lập dữ liệu này với độ chính xác cao, dễ dàng, chi phí thấp, và thông lượng cao. Tất cả các công nghệ chính, chẳng hạn như PCR phiên mã ngược định lượng và giải trình tự gene đều đối mặt với những thách thức trong việc lập dữ liệu axit nucleic. Do đó, các công nghệ microfluidic và nanofluidic được phát triển để khắc phục những hạn chế hiện tại của các công nghệ chính và xây dựng dữ liệu axit nucleic cho các ứng dụng y học gen trong tương lai. Ví dụ, tích hợp cảm biến màng nano trao đổi điện tích âm có thể định lượng miRNA 146a và miRNA 550 (chỉ dấu sinh học ung thư miệng và ung thư tuyến tụy) trong phân rã nuôi cấy tế bào thô ở giới hạn phát hiện 10 pM cho miR550, và 107-109 pM cho các bản sao miR550.

Tuy nhiên tại thời điểm sớm của bệnh, nồng độ của chất phân tích đặc trưng cho bệnh đó thường rất thấp. Đây là khó khăn lớn nhất trong chẩn đoán bệnh học. Nếu nồng độ chất phân tích quá thấp, thời gian phân tích sẽ kéo dài để tích lũy đủ tín hiệu. Ví dụ, trong các xét nghiệm microarray axit nucleic lai pha rắn đa bội hóa cao, khuếch đại enzyme được sử dụng để cung cấp đủ nồng độ chất phân tích thì thời gian phân tích yêu cầu lên đến 24 giờ để cho phép tích lũy đủ chất phân tích.

Để rút ngắn thời gian tập trung nồng độ chất phân tích, phương pháp chẩn đoán điểm quan tâm point of care (POC) được phát triển dựa trên công nghệ microfluidic và nanofluidic. Với việc sử dụng công nghệ này, một lượng nhỏ chất phân tích được sử dụng và được tập trung trong một không gian hẹp của thiết bị microfluidic, qua đó giảm được việc tiêu thụ chất phân tích, đồng thời thời gian cô đặc chất phân tích cũng giảm đáng kể. Đặc biệt việc ứng dụng công nghệ microfluidic cho phép sử dụng ít vật liệu chế tạo nên giá thành của thiết bị được hạ thấp. Việc sử dụng thiết bị để phân tích bệnh phẩm không yêu cầu nhân viên được đào tạo đặc biệt, nên công nghệ này phù hợp với các nước đang phát triển có nguồn lực hạn chế.

Có nhiều công trình nghiên cứu sử dụng công nghệ microfluidic và nanofluidic ứng dụng cơ chế phân cực ion để tập trung các phân tử sinh học. Trong bài báo “Thiết bị tập trung protein sử dụng màng trao đổi ion bề mặt” (Multiplexed

proteomic sample preconcentration device using surface-patterned ion-selective membrane) của nhóm tác giả “Jeong Hoon Lee, Yong-Ak Song, & Jongyoon Han” đăng trong tạp chí “Lab on a chip”, một thiết bị tập trung vi lỏng có thông lượng cao được chế tạo để tập trung protein. Thiết bị tập trung có dạng hai cổng truyền thống được chế tạo bằng vật liệu poly(dimethylsiloxane) (PDMS) trong đó màng trao đổi ion được in trực tiếp lên vi kênh bằng liên kết plasma. Thiết bị tập trung này có khả năng tăng nồng độ protein lên 10^4 trong 5 phút. Cũng sử dụng thiết bị tập trung dạng hai cổng truyền thống, nhóm tác giả “Honggu Chun, Taek Dong Chung, & J. Michael Ramsey” đã chế tạo bộ tập trung vi lỏng trong đó màng trao đổi ion được làm bằng vật liệu có khả năng dẫn ion cao poly-AMPS (2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid). Thiết bị tập trung này có khả năng tập trung dung dịch fluorescein and TRITC-tagged albumin với nồng độ rất thấp tương ứng 0,15 pmol và 15 fmol. Các kết quả này được trình bày trong bài báo “Bộ tập trung chất phân tích hiệu suất cao sử dụng vật liệu có độ dẫn ion cao” (High Yield Sample Preconcentration Using a Highly Ion-Conductive Charge-Selective Polymer) đăng trong tạp chí “Anal. Chem.”. Trong bài báo “Liên kết dọc nanofluidic tự kín cho các ứng dụng nanofluidic thông lượng cao” (Self-Sealed Vertical Polymeric Nanoporous-Junctions for High-Throughput Nanofluidic Applications) của nhóm tác giả “Sung Jae Kim & Jongyoon Han” đăng trong tạp chí “Anal. Chem.”, một phương pháp chế tạo đơn giản được sử dụng để liên kết màng trao đổi ion làm bằng vật liệu Nafion với vi kênh bằng vật liệu poly(dimethylsiloxane) (PDMS). Do tính linh hoạt của PDMS nên nó có khả năng tự làm kín mối liên kết với màng Nafion mà không cần sử dụng các phương pháp làm kín bổ sung. Với cách chế tạo đơn giản này, nhóm tác giả đã chứng minh khả năng tập trung của thiết bị ứng dụng cho việc tập trung β -phycoerythrin với nồng độ tăng lên 10^4 trong 22 phút.

Tuy nhiên, hầu hết các thiết bị tập trung đã được chế tạo của các nhóm tác giả nêu trên đều gặp vấn đề về sự rò rỉ phân tử sinh học qua vùng phân cực ion ICP ở phía trước màng trao đổi ion. Sự rò rỉ này làm giảm hiệu quả tập trung, dẫn đến nồng độ của các phân tử sinh học sau khi tập trung thấp, gây khó khăn trong việc cảm biến chúng. Nguyên nhân của sự rò rỉ này là do điện trường sinh ra trong vi kênh chứa mẫu không đủ lớn để ngăn sự di chuyển của các phân tử sinh học chỉ dấu từ cửa vào của vi kênh tới cửa ra. Trong sáng chế này, chúng tôi đề xuất một mô hình thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bằng cơ chế phân cực ion

với màng trao đổi ion đặt nghiêng. Sau khi tiến hành tính toán với các điều kiện làm việc và các thông số kích thước khác nhau, thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bằng cơ chế phân cực ion với màng trao đổi ion đặt nghiêng được tối ưu hóa kết cấu để đảm bảo tập trung nhanh chất cần phân tích với hiệu suất tập trung cao, qua đó nâng cao sự chính xác trong việc chẩn đoán bệnh học liên quan.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất một thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bằng cơ chế phân cực ion với màng trao đổi ion đặt nghiêng với các ưu điểm như: chi phí thấp, độ nhạy cao, thời gian phản hồi nhanh, lượng mẫu thử nhỏ, và có khả năng chế tạo hàng loạt. Đồng thời thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bằng cơ chế phân cực ion với màng trao đổi ion đặt nghiêng đề xuất có khả năng tập trung chất phân tích tốt hơn so với thiết bị tập trung truyền thống.

Để đạt được mục đích đó, sáng chế đề xuất một thiết kế thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bằng cơ chế phân cực ion với màng trao đổi ion đặt nghiêng với góc nghiêng tối ưu.

Như đã nói ở trên, khó khăn lớn nhất trong chẩn đoán bệnh học dựa vào các phân tử sinh học mang chỉ dấu sinh học liên quan là nồng độ của các phân tử sinh học đó rất thấp. Để khắc phục khó khăn đó, cần phải có phương pháp tập trung các phân tử sinh học để làm tăng nồng độ của nó lên mức cao hơn giới hạn phát hiện của các sensor. Có nhiều phương pháp tập trung, như: phương pháp xếp chồng mẫu khuếch đại trường (FASS), phương pháp đẳng điện di (ITP), phương pháp đẳng điện (IEF), phương pháp tập trung gradient điện trường (EFGF), phương pháp bẫy điện di (DEPT), phương pháp bẫy hỗ trợ hạt từ tính (MBAT), phương pháp bẫy nhiệt di (TPT). Trong các phương pháp đó, phương pháp bẫy điện động (EKT) dành được sự quan tâm đặc biệt. Phương pháp bẫy điện động có một số lợi thế quan trọng cho việc tập trung phân tử sinh học. Ví dụ, phương pháp bẫy điện động có thể ứng dụng cho tất cả các phân tử sinh học tích điện; sự tập trung của phân tử sinh học không yêu cầu phải thay đổi thời gian hoặc không gian trong bộ đệm; vùng phân tử sinh học được tập trung không phụ thuộc vào tính kỵ nước (hydrophobicity) của chúng; điện trường tạo bởi các điện cực trong vi kênh chứa mẫu có thể điều khiển dễ dàng quá trình tập trung các phân tử sinh học.

Phương pháp bẫy điện động dựa trên hiện tượng phân cực ion (ICP). Hiện tượng phân cực ion xảy ra ở gần màng trao đổi ion. Màng trao đổi ion có tính chọn lọc điện tích (ví dụ cho ion dương đi qua nhưng không cho ion âm đi qua) khi kích thước của các lỗ nano tương đương với độ dày của lớp điện tích kép (EDL). EDL có kích thước nanomet dưới sự phân bố đồng đều của điện tích bề mặt của kênh nano và nồng độ của chất điện phân trong kênh. Trong cấu trúc kênh nano, EDL có thể chồng lên nhau ở nồng độ chất điện ly trung bình (<10 mM), dẫn đến tạo thành một “ống di chuyển” của các ion ngược dấu trong kênh nano. Trong trường hợp này, các ion ngược dấu (đối với điện tích bề mặt của kênh nano) được vận chuyển qua các lỗ nano trong kênh (bằng cách trôi dạt hoặc khuếch tán), trong khi ion cùng dấu (ion có cùng cực với bề mặt tích điện) không thể đi qua các lỗ nano do lực đẩy tĩnh điện. Màng trao đổi ion (thường là các màng có điện tích bề mặt âm) được gọi là màng trao đổi ion dương gần như không cho phép ion âm đi qua.

Dưới tác dụng của dòng điện một chiều, các ion dương có thể xâm nhập và đi qua màng trao đổi ion dương ở phía anốt, trong khi các ion âm ở phía catốt sẽ bị cản trở xâm nhập vào màng. Như vậy, một dòng ion dương có thể được duy trì trong toàn bộ hệ thống, trong khi thông lượng của ion âm lại gần bằng không. Do đó các điện tích này sẽ được tích tụ (làm giàu) hoặc bị mất đi (nghèo) ở hai phía tiếp giáp giữa màng trao đổi ion và vi kênh micro. Hiện tượng này được gọi là sự phân cực ion (ICP). Trong vùng phân cực ion, điện trường được khuếch đại lên hàng chục lần do nồng độ của chất điện ly giảm mạnh tại đó. Điện trường này sẽ cản trở sự di chuyển của các phân tử sinh học (thường là các phân tử tích điện âm), từ đó hình thành lên vùng tập trung của các phân tử này.

Sau khi các phân tử sinh học được tập trung, nồng độ của chúng sẽ tăng lên. Vùng tập trung này thường có thể tích khá nhỏ và có thể điều khiển được bằng cách thay đổi điện trường tạo ra bởi các điện cực đặt trong kênh chứa mẫu của thiết bị tập trung. Điều này làm cho việc xét nghiệm các phân tử sinh học là chỉ dấu của các triệu chứng bệnh liên quan trở lên dễ dàng.

Như vậy có thể thấy hiệu suất tập trung của thiết bị phụ thuộc vào khả năng tạo ra điện trường đủ lớn trong vùng phân cực ion. Điện trường này sẽ giảm dần từ thành vi kênh theo phương vuông góc với thành vi kênh và hiện tượng rò lọt phân tử sinh học qua vùng phân cực sẽ xảy ra tại nơi có điện trường yếu nhất.

Mục đích của sáng chế là thiết kế thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bằng cơ chế phân cực ion với màng trao đổi ion đặt nghiêng. Trước tiên chúng tôi đề xuất thiết kế thiết bị tập trung dạng hai cổng có một màng trao đổi ion đặt nghiêng và một màng đặt thẳng; và dạng hai cổng có hai màng trao đổi ion đặt nghiêng đối xứng. Sau đó chúng tôi tiến hành tính toán bằng chương trình tính toán chuyên sâu để tối ưu hoá thiết kế và đánh giá hiệu quả tập trung của hai thiết kế đó so với thiết kế dạng hai cổng truyền thống. Các kết quả tính toán khảo sát ảnh hưởng của độ nghiêng của màng trao đổi ion lên hiệu suất tập trung phân tử sinh học, để từ đó lựa chọn được góc nghiêng tối ưu. Ngoài ra các thông số khác như ảnh hưởng của điện thế và áp suất cũng được tính toán để tìm ra các thông số làm việc tối ưu cho thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học. Sau khi tính toán, vi kênh chứa mẫu của thiết bị tập trung có các kích thước như sau: chiều dài $L = 10 - 50$ mm, chiều rộng $W = 100 - 500$ μm , và chiều cao $H = 10 - 100$ μm . Màng trao đổi ion có chiều dài $L_m = 50 - 500$ μm .

Sáng chế có giá thành hợp lý nếu màng trao đổi ion làm bằng vật liệu Nafion do Nafion có giá thành hợp lý và được sản xuất nhiều, phù hợp với những nơi hạn chế về nguồn lực.

Sáng chế có lợi hơn nếu các vi kênh làm bằng vật liệu polydimethylsiloxane (PDMS) là loại vật liệu mềm và linh hoạt, dễ dàng chế tạo theo phương pháp gia công tiêu chuẩn.

Sáng chế sẽ tốt hơn nếu màng trao đổi ion làm bằng vật liệu poly-AMPS (2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid) có độ dẫn ion cao.

Sáng chế sẽ tốt nhất nếu màng trao đổi ion làm bằng vật liệu poly(3,4-ethylenedioxythiophene) polystyrenesulfonate (PEDOT:PSS) có độ dẫn ion rất cao.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Sáng chế sẽ được hiểu rõ hơn thông qua các hình vẽ minh họa kèm theo, trong đó:

Hình 1 là sơ đồ cấu tạo của thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bằng cơ chế phân cực ion với màng trao đổi ion đặt nghiêng đề xuất dạng hai cổng có hai màng trao đổi ion đặt nghiêng đối xứng.

Hình 2 là vi kênh chứa mẫu của thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học với các kích thước cụ thể được sử dụng trong tính toán số tương ứng với thiết kế của Hình 1.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây sáng chế sẽ được mô tả chi tiết, tuy nhiên cần phải hiểu rằng các phương án này chỉ nhằm làm rõ sáng chế mà không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Hình 1 là cấu tạo của thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bằng cơ chế phân cực ion với màng trao đổi ion đặt nghiêng đề xuất gồm hai vi kênh đệm 8a và 8b (buffer channel) và một vi kênh chứa mẫu 7 (sample channel) nối với nhau bởi hai màng trao đổi ion đặt nghiêng đối xứng 4a và 4b. Trong kết cấu đề xuất, kênh micro 7 và 8a và 8b được chế tạo bằng vật liệu không thấm ion (non-ion permeable). Điện cực cao thế 1 và hạ thế 2 làm bằng vật liệu dẫn điện được đặt vào các bể chứa mẫu 5a và 5b ở hai đầu vi kênh chứa mẫu 7 để tạo ra hai điện thế khác nhau. Các điện cực 3a và 3b tại các bể chứa dung dịch điện ly 6a và 6b đặt tại các đầu của vi kênh đệm 8a và 8b được nối với đất để kích hoạt quá trình trao đổi ion tại màng trao đổi ion. Chất điện ly với nồng độ 1 - 10 mM được bơm vào các vi kênh đệm 8a và 8b và vi kênh chứa mẫu 7. Để kiểm tra khả năng tập trung của thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học, DNA tiêu chuẩn đơn (ssA5a oligomers) với hệ số điện di $2,912 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ Vs}^{-1}$ được sử dụng làm phân tử sinh học chỉ dấu và được bơm vào bể chứa mẫu 5a và 5b. Chất điện ly được sử dụng là KCl với nồng độ 10 mM. Thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học được đặt trên tấm đế 9.

Nguyên lý hoạt động của thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bằng cơ chế phân cực ion với màng trao đổi ion đặt nghiêng như sau: Khi điện thế được đặt vào hai cực 1 và 2 trên vi kênh chứa mẫu 7, điện trường tiếp tuyến (E_T) được sinh ra dọc theo vi kênh chứa mẫu từ trái sang phải, tạo ra dòng bulk flow (BF) và dòng điện di (EP) tác động lên các phân tử sinh học, làm cho các phân tử này chuyển động đến vùng tập trung phía trước vùng phân cực ion ICP gần màng trao đổi ion. Tại vùng tập trung của các phân tử sinh học, hai vận tốc này cân bằng nhau. Như vậy điều kiện để xuất hiện vùng tập trung theo yêu cầu thiết kế của thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học là: (1) tại cửa vào của vi kênh chứa mẫu dòng BF phải lớn hơn vận tốc EP; (2) tại vùng tập trung vận tốc EP phải đủ lớn để cân

bằng với dòng BF - điều này đạt được do điện trường tại vùng ICP tăng nhanh do sự giảm của nồng độ ion tại đây.

Hình 2 là vi kênh chứa mẫu với chiều dài $L = 10 - 50$ mm và chiều rộng $W = 100 - 500$ μm được sử dụng trong thiết kế. Điện thế 50 - 100 V được đặt lên điện cực 1 và điện thế 25 - 50 V được đặt lên điện cực 2. Màng trao đổi ion được đặt ở chính giữa vi kênh chứa mẫu và có điện thế bằng không (nối đất). Kết quả tính toán thu được độ lớn của điện trường tại vùng phân cực ion là 411 - 822 V/cm. Điều đó thể hiện rằng thiết kế trên Hình 1 là tốt nhất so với các thiết kế đã công bố trước đây do tạo ra được điện trường lớn nhất trong vi kênh chứa mẫu. Ngoài ra thiết kế hai màng trao đổi ion đối xứng làm tăng sự ổn định của vùng ICP, qua đó làm tăng hiệu quả tập trung các phân tử sinh học.

Hiệu quả tập trung của thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học phụ thuộc vào góc nghiêng của màng trao đổi ion. Khi góc nghiêng tăng dần thì điện trường tạo ra trong vi kênh trong vùng ICP cũng tăng lên tương ứng do màng trao đổi ion có vị trí tiến lại gần tâm của vi kênh - là nơi mà điện trường yếu nhất. Do điện trường tăng lên, các phân tử sinh học sẽ có vận tốc điện di EP lớn hơn, qua đó giúp chúng cân bằng với vận tốc dòng BF và ngăn cho chúng không bị đẩy về phía cửa ra của vi kênh. Kết quả là nồng độ phân tử sinh học của chất phân tích tăng lên. Tuy nhiên khi góc nghiêng tăng lên, chiều rộng của vi kênh phía sau màng trao đổi ion giảm đi. Điều này gây ra hiệu ứng nén (squeeze), làm cho vận tốc dòng BF giảm xuống tại cửa vào của vi kênh. Nếu vận tốc BF giảm xuống nhỏ hơn vận tốc EP thì điều kiện (1) để hình thành vùng tập trung sẽ không được thỏa mãn.

Dựa vào kết quả tính toán, tại góc nghiêng 13° điều kiện (1) sẽ không thỏa mãn vì tại đó vận tốc BF nhỏ hơn vận tốc EP. Như vậy góc nghiêng vào khoảng 11° sẽ cho kết quả tập trung các phân tử sinh học tốt, và góc nghiêng tốt nhất cho màng trao đổi ion là vào khoảng 12° .

Hiệu quả tập trung của thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học phụ thuộc vào điện thế đặt vào các điện cực 1 và 2 trong vi kênh chứa mẫu 7. Để khảo sát mối quan hệ này, các giá trị điện thế khác nhau được sử dụng để tính toán số: (i) $V_1 = 25$ V và $V_2 = 0$; (ii) $V_1 = 50$ V và $V_2 = 25$ V; (iii) $V_1 = 100$ V và $V_2 = 50$ V. Các điện thế này được đặt vào cực cao thế và cực hạ thế của thiết kế bộ tập trung chỉ dấu sinh học đề xuất trên Hình 1. Do nồng độ của ion trong vùng phân cực ICP thấp nên tính dẫn điện trong vùng này thấp, qua đó làm cho điện trường tăng

lên khá cao (gấp nhiều lần so với điện trường ở vùng ion trung tính). Chính điện trường này tạo thành rào chắn ngăn không cho phân tử sinh học tích điện âm chuyển động qua vùng không gian gần màng trao đổi ion, từ đó các phân tử sinh học này được tích tụ lại, làm tăng nồng độ lên đến mức sensor có thể đo đạc được.

Ở trường hợp (i) do điện thế tại các điện cực thấp nên dòng BF nhỏ ($U_{BF} = 0,15$ mm/s), không đủ để chống lại dòng EP ($U_{EP} = 0,22$ mm/s) tại cửa vào vi kênh, do đó không có hiện tượng tập trung các phân tử sinh học. Khi điện thế tăng lên tương ứng với trường hợp (ii), vận tốc dòng BF tăng lên ($U_{BF} = 0,45$ mm/s) lớn hơn vận tốc dòng EP ($U_{EP} = 0,32$ mm/s) nên các điều kiện (1) và (2) đều thỏa mãn và xuất hiện vùng tập trung các phân tử sinh học ở phía trước màng trao đổi ion. Khi tiếp tục tăng điện thế như ở trường hợp (iii), vận tốc dòng BF ($U_{BF} = 0,85$ mm/s) lớn hơn so với trường hợp (ii), làm cho lưu lượng khối lượng các phân tử sinh học chuyển động đến vùng ICP tăng lên, qua đó làm tăng hiệu quả tập trung. Tuy nhiên điện thế cao như trong trường hợp (iii) lại rơi vào vùng over-limiting nên gây ra sự không ổn định của vùng ICP. Hơn nữa khi điện thế tăng lên quá cao sẽ phát sinh nhiệt làm biến dạng vi kênh và màng trao đổi ion, cũng như liên quan đến vấn đề tiết kiệm năng lượng. Do vậy giá trị điện thế tốt nhất sẽ tương ứng với trường hợp (ii).

Hiệu quả tập trung của thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học phụ thuộc vào áp suất đặt tại cửa vào của vi kênh. Dưới tác dụng của áp suất tại cửa vào, vận tốc dòng BF tăng tương ứng theo độ tăng của áp suất đầu vào. Điều này làm tăng lưu lượng các phân tử sinh học, qua đó làm tăng hiệu quả tập trung. Tuy nhiên khi áp suất tăng quá cao, dòng BF lớn sẽ đẩy các phân tử sinh học vào vùng xoáy hình thành gần màng trao đổi ion và một phần các phân tử này bị mắc kẹt và quay cùng các xoáy đó, làm giảm hiệu quả tập trung. Dựa vào kết quả tính toán, tại áp suất vào khoảng $P = 1,1$ kPa (áp dụng với kênh dài 10 mm, với kênh dài khác áp suất sẽ thay đổi theo tỉ lệ độ dài), các phân tử sinh học sẽ bị đẩy vào các xoáy, nên áp suất $P = 0,9$ kPa (áp dụng với kênh dài 10 mm, với kênh dài khác áp suất sẽ thay đổi theo tỉ lệ độ dài) sẽ cho kết quả tốt hơn. Áp suất đặt tại cửa vào của vi kênh tốt nhất ở giá trị $P = 1$ kPa (áp dụng với kênh dài 10 mm, với kênh dài khác áp suất sẽ thay đổi theo tỉ lệ độ dài).

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bằng cơ chế phân cực ion với màng trao đổi ion đặt nghiêng dạng hai cửa theo sáng chế có hiệu quả trong việc tập trung các phân tử sinh học đóng vai trò là chỉ dấu sinh học của các bệnh liên quan. So với các thiết kế khác, thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bằng cơ chế phân cực ion với màng trao đổi ion đặt nghiêng dạng hai cửa có hai màng trao đổi ion đối xứng nên vùng tập trung phân tử sinh học ổn định hơn, qua đó thuận tiện trong việc vận hành chúng trong quá trình xét nghiệm. Ưu điểm lớn nhất của thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bằng cơ chế phân cực ion với màng trao đổi ion đặt nghiêng đề xuất đó là có khả năng sinh ra điện trường lớn trong vùng phân cực ICP, qua đó nâng cao hiệu quả của việc tập trung các phân tử sinh học và độ chính xác của kết quả xét nghiệm. Ngoài ra thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bằng cơ chế phân cực ion với màng trao đổi ion đặt nghiêng có chi phí chế tạo thấp, không yêu cầu đội ngũ y tế xét nghiệm có trình độ cao, và phù hợp với những nơi có nguồn lực thấp như ở các nước đang phát triển. Do vậy sáng chế đã có đóng góp quan trọng trong việc nâng cao chất lượng chăm sóc y tế bằng việc chế tạo thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học có giá thành phù hợp trong chẩn đoán sớm các bệnh cho đa số người dân.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Thiết bị tập trung chỉ dấu sinh học bằng cơ chế phân cực ion với màng trao đổi ion đặt nghiêng bao gồm:

một tấm đế làm bằng kính (glass) hoặc các vật liệu cứng không thấm nước tương đương (9);

hai vi kênh đệm (8a), (8b) và một vi kênh chứa mẫu (7) làm bằng vật liệu không thấm ion có kích thước cao 10 - 50 μm , rộng 100 - 500 μm và dài 10 - 50 mm chứa chất điện ly với nồng độ 1 - 10 mM;

hai màng trao đổi ion (4a), (4b) làm bằng vật liệu chỉ cho ion dương đi qua có chiều dài 50 - 500 μm được in lên toàn bộ mặt cắt của vi kênh micro tại chính giữa vi kênh với góc nghiêng trong khoảng 10° - 12° ;

hai bể chứa mẫu (5a), (5b) chứa DNA tiêu chuẩn đơn (ssA5a oligomers) với hệ số điện di $2,912 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ Vs}^{-1}$, với các điện cực (1) và (2) làm bằng vật liệu dẫn điện tốt đặt tại hai đầu của vi kênh chứa mẫu (7) có các điện thế lần lượt là 50 - 100 V và 25 - 50 V;

hai bể chứa đệm (6a) chứa chất điện ly với nồng độ 1 - 10 mM, với các điện cực (3a) nối với đất tại các đầu của vi kênh đệm (8a);

hai bể chứa đệm (6b) chứa chất điện ly với nồng độ 1 - 10 mM, với các điện cực (3b) nối với đất tại các đầu của vi kênh đệm (8b);

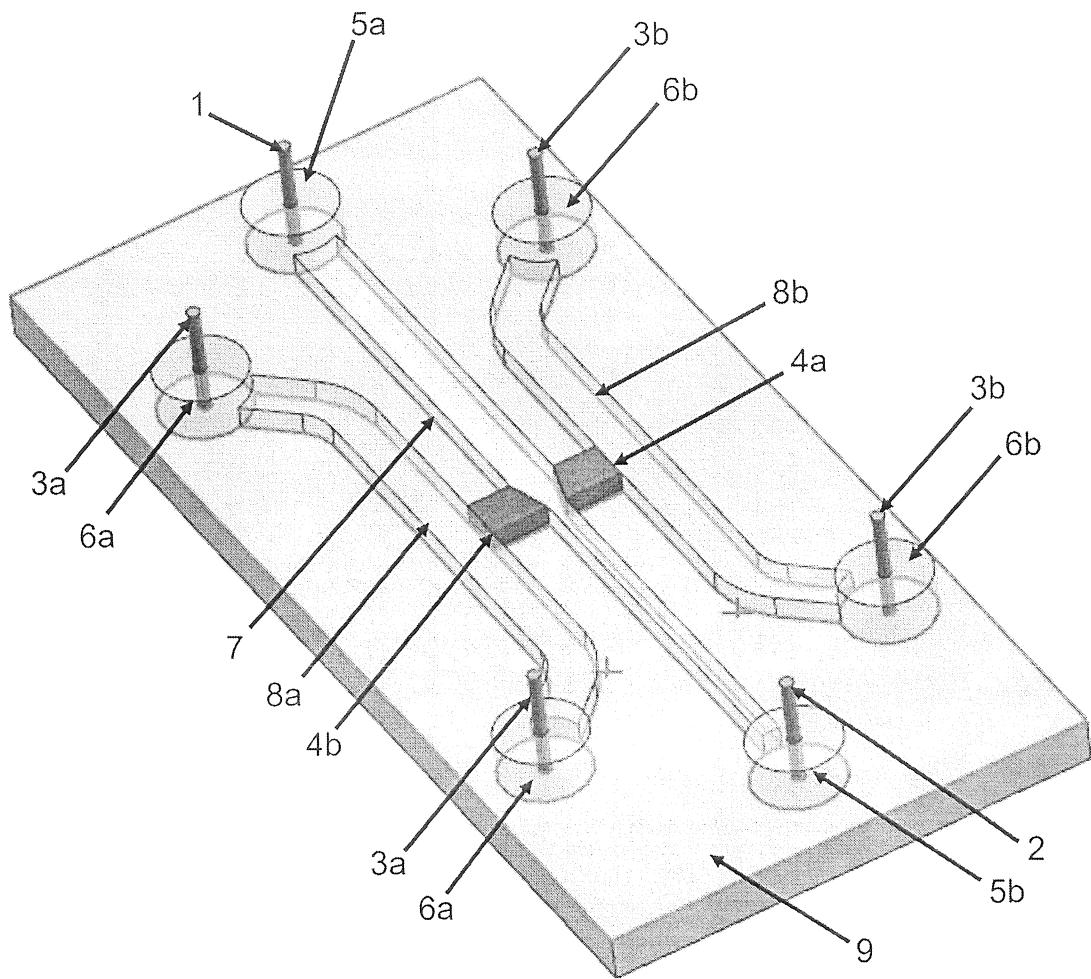
tất cả các bể chứa có đường kính trong khoảng 0,5 - 200 mm;

áp suất tại cửa vào của vi kênh chứa mẫu (7) là $P = 0,9 - 1 \text{ kPa}$ để đảm bảo các phân tử sinh học có thông lượng cao, đồng thời tránh cho các phân tử này bị đẩy vào vùng xoáy gần màng trao đổi ion.

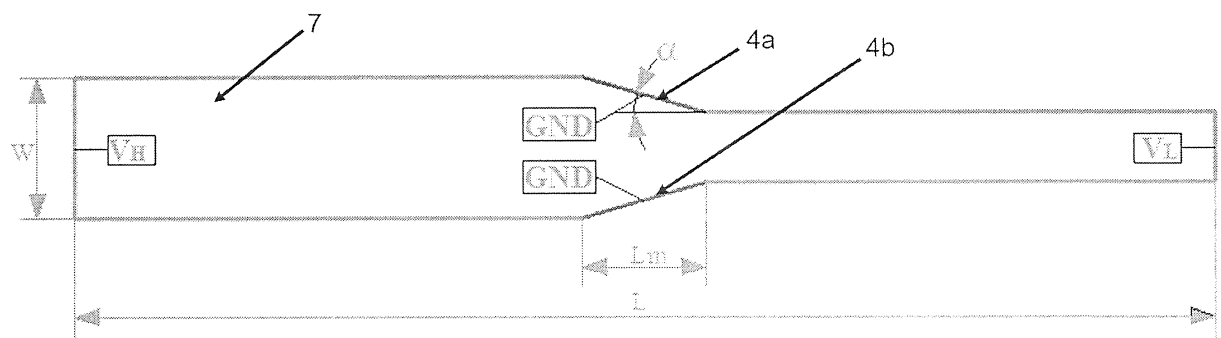
2. Thiết bị theo điểm 1, trong đó các vi kênh làm bằng vật liệu không truyền dẫn ion, tốt nhất là làm bằng vật liệu polydimethylsiloxane (PDMS).

3. Thiết bị theo điểm 1 và điểm 2, trong đó màng trao đổi ion làm bằng vật liệu Nafion, tốt hơn làm bằng vật liệu poly-AMPS(2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid), tốt nhất làm bằng vật liệu poly(3,4-ethylenedioxythiophene) polystyrenesulfonate (PEDOT:PSS).

4. Thiết bị theo bất kỳ điểm nào từ điểm 1 đến điểm 3, tốt nhất là màng trao đổi ion được đặt nghiêng một góc từ 11° - 12° .



Hình 1



Hình 2