

Một số thành tựu trong nghiên cứu phát triển nền tảng chip vi lưu tập trung và phát hiện protein dựa trên kênh dẫn nano và cảm biến trở kháng

Trần Như Chí¹, Huỳnh Thị Thùy Linh^{1,2}, Đỗ Quang Lộc³, Bùi Thanh Tùng^{1*}

¹Khoa Điện tử Viễn thông, Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, phường Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

²Khoa Kỹ thuật và Công nghệ, Đại học Huế, 1 Điện Biên Phủ, phường Vĩnh Ninh, TP. Huế, Việt Nam

³Khoa Vật lý, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, 334 Nguyễn Trãi, phường Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 21/10/2024; ngày gửi phản biện 23/10/2024; ngày nhận phản biện 12/11/2024; ngày chấp nhận đăng 18/11/2024

Tóm tắt:

Những tiến bộ gần đây trong công nghệ vi lưu đã thúc đẩy sự phát triển đáng kể trong các phương pháp phát hiện protein - một kỹ thuật quan trọng trong chẩn đoán sớm và điều trị hiệu quả các bệnh lý, đặc biệt là ung thư. Sự kết hợp giữa kỹ thuật vi lưu và các công nghệ cảm biến tiên tiến không chỉ giúp giảm thể tích mẫu và thời gian phân tích, mà còn cải thiện đáng kể độ nhạy, độ chọn lọc và khả năng tích hợp của hệ thống phát hiện. Nghiên cứu này tổng quan và phân tích những tiến bộ mới trong phát triển cấu trúc vi lưu tiên tiến, tích hợp công nghệ kênh dẫn nano và cảm biến trở kháng, hướng tới nâng cao hiệu quả phát hiện protein. Nền tảng vi lưu tích hợp đề xuất sử dụng phương pháp phân cực nồng độ ion (ion concentration polarisation - ICP) dựa trên các kênh nano để tập trung protein, cùng với kỹ thuật đo phổ trở kháng điện hóa nhằm phát hiện protein đích. Phương pháp tích hợp này giúp nâng cao độ nhạy và đặc hiệu, mang lại giải pháp hiệu quả để phát hiện protein ở nồng độ thấp trong các mẫu sinh học. Thông qua việc điều khiển nồng độ ion trong kênh vi lưu và cảm biến trở kháng trên thiết bị phòng thí nghiệm trên chip, các kết quả nghiên cứu cho thấy triển vọng của một phương pháp chẩn đoán chi phí thấp, hiệu quả và dễ mở rộng, với tiềm năng ứng dụng trong các thiết bị chăm sóc sức khỏe tại chỗ.

Từ khóa: cảm biến trở kháng, làm giàu protein, phát hiện protein, phân cực nồng độ ion, vi lưu.

Chỉ số phân loại: 2.2, 2.6, 3.5

Some notable achievements in research and development of microfluidic chip platforms for protein preconcentration and detection based on nanochannel techniques and impedance sensors.

Nhu Chi Tran¹, Thi Thuy Linh Huynh^{1,2}, Quang Loc Do³, Thanh Tung Bui^{1*}

¹Faculty of Electronics and Telecommunications, University of Engineering and Technology, Vietnam National University - Hanoi, 144 Xuan Thuy Street, Cau Giay Ward, Hanoi, Vietnam

²Faculty of Engineering and Technology, Hue University, 1 Dien Bien Phu Street, Vinh Ninh Ward, Hue City, Vietnam

³Faculty of Physics, University of Science, Vietnam National University - Hanoi, 334 Nguyen Trai Street, Thanh Xuan Ward, Hanoi, Vietnam

Received 21 October 2024; revised 12 November 2024; accepted 18 November 2024

Abstract:

Recent advances in microfluidic technology have significantly driven the development of protein detection methods, a critical technique for early diagnosis and effective treatment of diseases, particularly cancer. The combination of microfluidic systems with advanced sensing technologies not only reduces sample volume and analysis time but also significantly enhances the sensitivity, selectivity, and integration capability of detection systems. This study provides an overview and evaluation of recent achievements in enhancing microfluidic structures, combining nanochannel techniques with impedance sensors for protein detection. The proposed integrated microfluidic platform employs ion concentration polarisation (ICP) based on nanochannels for protein preconcentration, along with electrochemical impedance spectroscopy (EIS) to detect target proteins. This integrated approach improves sensitivity and specificity, offering an efficient solution for detecting low-concentration proteins in biological samples. By controlling ion concentration within the microfluidic channel and using impedance sensors on a lab-on-chip device, the reported results demonstrate the potential of a low-cost, efficient, and scalable diagnostic method with promising applications in point-of-care devices.

Keywords: impedance biosensor, ion concentration polarisation, microfluidics, protein detection, protein enrichment.

Classification numbers: 2.2, 2.6, 3.5

*Tác giả liên hệ: Email: tungbt@vnu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Phát hiện protein thông qua các phương pháp miễn dịch là kỹ thuật quan trọng trong việc theo dõi, chẩn đoán và điều trị các bệnh, đặc biệt là ung thư [1]. Việc chẩn đoán sớm cung cấp điều kiện tiên quyết để xác định phương pháp hiệu quả trong việc điều trị ung thư. Ung thư phổi, bao gồm ung thư phổi tế bào nhỏ (Small Cell Lung Cancer - SCLC) và ung thư phổi không tế bào nhỏ (None-Small Cell Lung Cancer - NSCLC), là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây tử vong. Phân tích protein có ưu thế vượt trội nhờ khả năng phản ánh trực tiếp các quá trình thay đổi trong tế bào và các cơ quan của cơ thể, cả bình thường và bệnh lý. Nếu xét riêng ung thư phổi, các chỉ dấu khối u thông dụng trong chẩn đoán và điều trị ung thư phổi có thể kể đến như CEA, CA 19-9, SCC, NSE và NY-ESO-1 có thể được sử dụng như một trợ giúp trong chẩn đoán mô học và tiên lượng. Xét nghiệm NSE được sử dụng để chẩn đoán, đánh giá giai đoạn bệnh và theo dõi hiệu quả điều trị ở các bệnh nhân có khối u thần kinh nội tiết (neuroendocrine tumors), hoặc là ung thư phổi tế bào nhỏ và u nguyên bào thần kinh (neuroblastoma). Enolase đặc hiệu thần kinh (NSE) được xem là dấu ấn khối u đáng tin cậy cho ung thư phổi tế bào nhỏ trong chẩn đoán sớm [2]. Mức NSE trong máu cao hơn ngưỡng cho phép là dấu hiệu quan trọng để phát hiện sớm ung thư phổi tế bào nhỏ [3]. Ở người, nồng độ NSE duy trì khoảng 12,5 $\mu\text{g/l}$ và tăng cao khi mắc ung thư phổi [4].

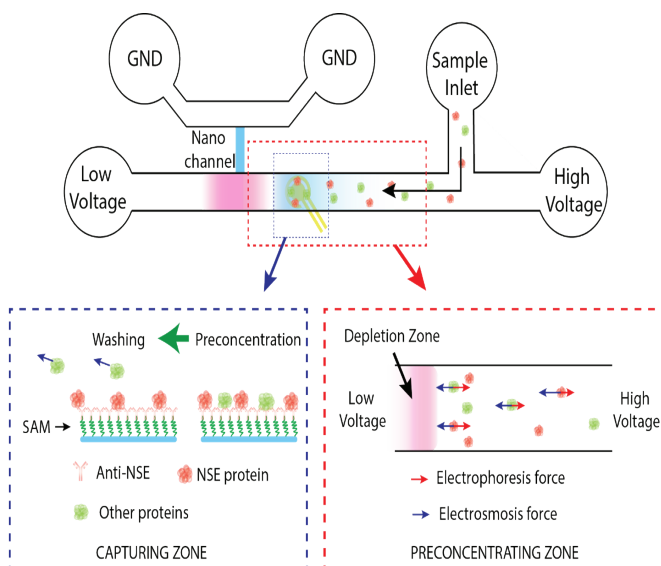
Hiện nay, các chip vi lưu hoặc nền tảng Phòng thí nghiệm trên chip (Lab-on-a-Chip) đang được phát triển mạnh mẽ để phát hiện và phân tích các mẫu hóa học và sinh học [5, 6]. Các chip vi lưu đã được áp dụng trong nhiều lĩnh vực nghiên cứu khác nhau, bao gồm tổng hợp hóa học, nghiên cứu proteomics, phân tích tế bào đơn, kỹ thuật mô, sàng lọc nhanh, phân tích môi trường và chẩn đoán y tế [7-9]. Trong lĩnh vực proteomics, chip vi lưu được phát triển để phát hiện và định lượng nồng độ protein, nhằm chẩn đoán và dự đoán các bệnh ung thư [10, 11]. Tập trung làm giàu protein là bước đầu tiên và quan trọng trong quy trình phát hiện protein, đặc biệt khi nồng độ protein trong mẫu sinh học thường rất thấp. Nhiều phương pháp đã được phát triển để cải thiện quá trình này. Một trong những phương pháp phổ biến là xếp chồng mẫu bằng cách khuếch đại trường, nơi mà điện trường được sử dụng để tập trung các phân tử protein vào một không gian hẹp, qua đó nâng cao khả năng phát hiện [12, 13]. Điện di đẳng thế (Isotachopheresis) là một kỹ thuật khác sử dụng gradient điện thế để tách và tập trung các phân tử protein dựa trên sự khác biệt về tính di động điện [14, 15]. Bẫy điện động (Electrokinetic Trapping) sử dụng các màng chọn lọc điện tích nano hoặc kênh vi lưu để bẫy và tập trung protein [16, 17]. Tập trung sắc ký (Chromatographic Preconcentration) sử dụng nguyên lý sắc ký để phân tách và tập trung các phân tử protein trong một cột pha tĩnh [18]. Tập trung màng lọc (Membrane Preconcentration) sử dụng

màng lọc với những lỗ nhỏ để giữ lại các phân tử protein trong khi loại bỏ các thành phần không mong muốn [19]. Trong số các phương pháp tập trung làm giàu protein đã được nhiều nhóm nghiên cứu trên thế giới quan tâm và phát triển, bẫy điện động dựa trên các màng chọn lọc điện tích có kích thước nano hoặc các kênh vi lưu trở nên nổi bật nhờ khả năng tập trung hiệu quả các phân tử hoặc hạt mang điện có kích thước khác nhau, cụ thể là protein trong các môi trường đệm sinh học hoặc mẫu chất lỏng của cơ thể [20, 21]. Cơ chế này dựa trên hiện tượng điện di, trong đó các phân tử protein mang điện di chuyển dưới tác động của một trường điện, và bị bắt giữ trong một vùng có điện trường mạnh. Phương pháp này có thể tập trung protein ở mức độ cao, ngay cả khi nồng độ ban đầu rất thấp, nhờ vào khả năng tạo ra miền nghèo ion trong cấu trúc nano, nơi mà các protein được tập trung và chuẩn bị cho quá trình phát hiện tiếp theo.

Sau khi các protein đã được tập trung, việc phát hiện và định lượng nồng độ protein có trong mẫu xét nghiệm là bước quan trọng tiếp theo. Cảm biến sinh học điện hóa đã trở thành công cụ chính trong việc này, đặc biệt trong chẩn đoán bệnh và các thiết bị điểm chăm sóc (POC) với khả năng tiểu hình hóa và tính tích hợp cao [22, 23]. Cảm biến điện hóa là loại cảm biến sử dụng bộ chuyển đổi điện hóa để chuyển đổi các sự kiện sinh hóa thành tín hiệu điện. Những phản ứng sinh hóa có thể liên quan đến phản ứng enzyme-substrate hoặc tương tác kháng nguyên - kháng thể [24, 25]. Để phát triển cảm biến điện hóa, bề mặt điện cực thường được biến đổi bằng cách sử dụng các hóa chất khác nhau nhằm cố định các phân tử sinh học như enzyme hoặc kháng thể [26, 27]. Những phản ứng sinh hóa này sau đó có thể được nhận diện thông qua các kỹ thuật đo điện hóa phổ biến như quét thế vòng (CV), phổ trở kháng điện hóa (EIS) và voltammetry sóng vuông (SWV) [28, 29]. Hiện nay, phần lớn các cảm biến sinh học, đặc biệt là cảm biến miễn dịch, sử dụng enzyme, kháng thể, axit nucleic để nhận diện các chất phân tích và phân tử sinh học, với tín hiệu thu được được chuyển đổi thành tín hiệu điện hoặc quang học để đo lường [30, 31]. Cảm biến sinh học điện hóa là một kỹ thuật cảm biến hiện đại, dựa trên sự nhận diện đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể, mang lại nhiều lợi ích nhờ vào độ đặc hiệu cao, độ nhạy tốt và khả năng tích hợp hiệu quả [2, 32]. Nhiều nghiên cứu đã áp dụng các kỹ thuật đo lường điện hóa để phát triển các phương pháp phát hiện dấu ấn sinh học nhanh chóng và tiết kiệm chi phí, bao gồm việc sử dụng vật liệu nanocomposite và phương pháp quang khắc, nhờ vào độ nhạy, độ tin cậy và tính đa chức năng của chúng [32, 33]. Tuy nhiên, những phương pháp này thường yêu cầu nhiều thời gian để hoàn thành quá trình biến đổi bề mặt với nhiều bước và lớp chức năng hóa, dẫn đến hạn chế trong việc ứng dụng tiện lợi cho các thiết bị chẩn đoán. Nghiên cứu này thực hiện tổng quan và đánh giá một số thành tựu gần đây trong việc phát triển hướng tiếp cận mới cho việc

chế tạo cảm biến miễn dịch phát hiện protein, dựa trên việc sử dụng điện cực và lớp tự sắp xếp (SAM) được tích hợp cùng với cấu trúc tập trung làm giàu protein. Phương pháp này giúp giảm chi phí và đơn giản hóa quy trình xét nghiệm phát hiện và đo lường định lượng protein.

Nền tảng cấu trúc được đề xuất trong nghiên cứu này là một hệ thống vi lưu tích hợp, bao gồm các hệ thống tập trung làm giàu và cảm biến phát hiện nồng độ protein, cho phép đánh giá, phân tích và định lượng nồng độ protein trong mẫu xét nghiệm. Hình 1 minh họa nền tảng cấu trúc làm giàu và cảm biến protein. Trong hệ thống này, mẫu protein được đưa vào qua lối vào mẫu (Sample Inlet). Dựa trên cấu trúc tạo miền nghèo ion của kênh dẫn nano và hiện tượng điện thẩm, các protein trong mẫu sẽ được thao tác di chuyển hướng tới khu vực cảm biến vi điện cực. Tại đây, miền nghèo ion sẽ bẫy các protein ngay trên bề mặt điện cực cảm biến, nơi đã được chức năng hóa và cố định với kháng thể đặc hiệu cho protein đích. Khi các protein đích di chuyển đến, chúng sẽ bắt cặp đặc hiệu với kháng thể trên bề mặt điện cực. Sau quá trình rửa trôi, các protein không đặc hiệu sẽ được loại bỏ khỏi khu vực điện cực, và khi đó, phép đo trở kháng sẽ cung cấp kết quả tương ứng với nồng độ protein đích đã bắt cặp trên bề mặt điện cực. Hệ thống tập trung và cảm biến miễn dịch mới này hứa hẹn cung cấp một nền tảng chẩn đoán chi phí thấp, nhạy bén và thuận tiện tại điểm chăm sóc trong thực hành lâm sàng.



Chú thích:

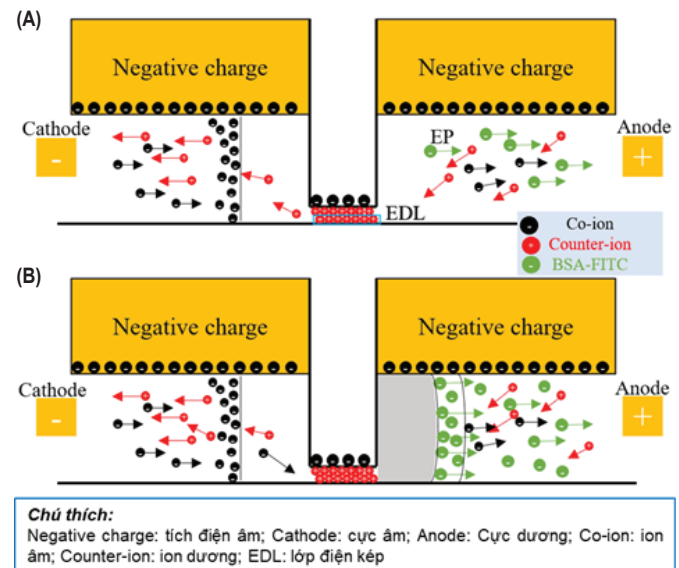
Low voltage: điện áp thấp; High voltage: điện áp cao; Nano channel: kênh nano; Sample inlet: lối mẫu vào; Washing: rửa; Preconcentration: tập trung; Depletion zone: vùng nghèo; Other proteins: protein khác; Electrophoresis force: lực điện di; Electroosmosis force: lực điện thẩm; Capturing zone: vùng bắt giữ; Preconcentration zone: vùng tập trung

Hình 1. Sơ đồ nguyên lý thiết bị vi lưu đề xuất tích hợp cấu trúc tập trung làm giàu và phát hiện protein.

2. Nguyên lý và thiết kế

2.1. Nguyên lý tập trung làm giàu protein dựa trên phân cực nồng độ ion

Do nồng độ protein trong mẫu dao động từ fM đến μM , thể tích mẫu cần thiết cho mỗi lần kiểm tra thường khá lớn. Để giảm lượng mẫu tiêu thụ, cần sử dụng đến các cấu trúc, hệ thống tập trung và làm giàu protein tại các khu vực cảm biến. Y.C. Wang và cs (2005) [34] sự đã phát triển một thiết bị tập trung protein dựa trên cơ chế bẫy điện động học, sử dụng bộ lọc nano và đạt được hệ số tập trung cao đến 10^6 - 10^8 lần trong 10^4 giây. Các kỹ thuật khác để tập trung protein ở nồng độ cực thấp, bao gồm tăng cường mẫu theo trường điện, điện di đẳng thế, điện di tiêu điểm đẳng điện, bộ lọc nano và màng xốp nano, cũng đã được phát triển, mặc dù các kỹ thuật này có quy trình khá phức tạp [35]. Đặc biệt trong đó, phương pháp sử dụng bộ lọc nano để làm giàu protein dựa trên hiệu ứng ICP đã được đề xuất nghiên cứu và phát triển, hứa hẹn sẽ trở thành công cụ đơn giản, hiệu quả cao cho việc tập trung làm giàu protein trước khi thực hiện cảm biến phát hiện, đặc biệt là khả năng tích hợp cùng với các cấu trúc vi lưu, hướng tới khả năng phát triển các thiết bị chăm sóc điểm [36].



Hình 2. Nguyên lý của hiệu ứng phân cực nồng độ ion (ICP) thông qua màng chọn lọc ion: (A) Sự hình thành lớp điện kép (EDL) tại thành của kênh nano; (B) Sự tích tụ protein bị ảnh hưởng bởi dòng điện thẩm (EOF).

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đề xuất việc sử dụng hiệu ứng ICP của kênh dẫn nano để thực hiện việc tập trung protein dựa trên dòng dịch chuyển điện thẩm và dòng dịch chuyển điện di khi được áp điện trường ngoài vào cấu trúc kênh dẫn. Dòng chảy điện thẩm được gây ra bởi bề mặt của kênh dựa trên các hiệu ứng tạo ra bởi các sự phân bố điện tích giữa thành kênh và dung dịch. Ở khu vực thành kênh

các lớp ion tự do với mật độ lớn hơn kéo theo các ion trái dấu di chuyển khi dòng chảy điện di xảy ra. Dòng chảy điện thẩm đạt được hiệu suất cao khi kích thước của vi kênh giảm xuống dẫn đến vùng ảnh hưởng của phân bố điện tích giữa hai lớp tăng lên đáng kể trong kênh. Hiệu ứng trên đã được sử dụng trong xét nghiệm sắc ký khi mà dòng chảy điện thẩm trong ống mao dẫn kéo các ion khác nhau với tốc độ khác nhau dẫn đến hệ quả là khi độ dài của ống đủ lớn thì các loại ion khác nhau bị phân tách [37, 38]. Hình 2 mô tả nguyên lý hình thành miền nghèo dựa trên cấu trúc kênh dẫn nano.

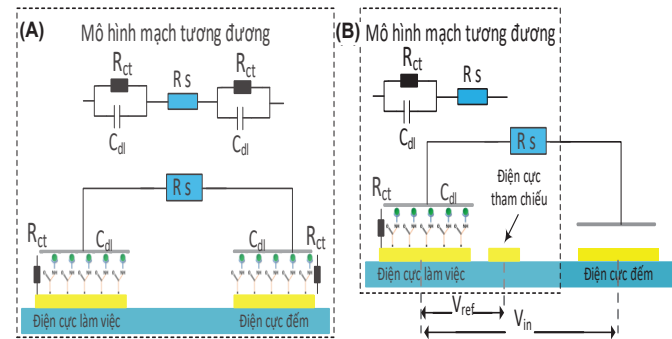
Trong nỗ lực phát triển và tối ưu hóa hiệu năng tập trung làm giàu protein, nghiên cứu của C.T. Nhu và cs (2022, 2023a) [39, 40] đã nghiên cứu đề xuất và thử nghiệm cấu trúc lưỡng cổng sử dụng màng chọn lọc ion để tạo ra các khu vực tập trung protein. Cấu trúc tập trung mà nhóm nghiên cứu đề xuất bao gồm ba kênh: một kênh chính để làm giàu protein và hai kênh đệm để ổn định vùng nghèo, vùng này đối xứng với kênh chính. Kênh chính được kết nối với các kênh đệm bằng một kênh nano làm cầu nối. Nafion, một màng chọn lọc cation mang điện tích âm trên bề mặt, đã được sử dụng trong cấu trúc này. Khi vùng nghèo được tạo ra, chênh lệch điện áp được áp dụng giữa hai đầu vào để tập trung protein thông qua lực cân bằng giữa dòng điện di do gradient điện trường và dòng điện thẩm [41].

2.2. Nguyên lý cảm biến phát hiện nồng độ protein sử dụng kỹ thuật cảm biến trở kháng

Đánh giá về cấu hình điện cực sử dụng trong cảm biến trở kháng phát hiện nồng độ protein: Phương pháp đo điện hóa hiện đang được xem là một kỹ thuật triển vọng nhờ khả năng phát hiện các phản ứng điện hóa trên bề mặt điện cực, điều này là rất quan trọng trong hầu hết các thiết bị cảm biến sinh học, đặc biệt là trong việc phát hiện các phân tử sinh học. Cả hai phương pháp đo vòng tuần hoàn (CV) và phổ trở kháng điện hóa (EIS) đều được coi là kỹ thuật không phá hủy, vì các liên kết trên bề mặt điện cực vẫn ổn định và bền vững trong suốt quá trình đo lường. Điều này giúp bề mặt điện cực không bị ảnh hưởng bởi các phép đo này. Trong nghiên cứu của C.T. Nhu và cs (2024) [42], nhóm nghiên cứu đã triển khai, so sánh và đánh giá hiệu quả trong đo lường của hai phương pháp này cụ thể ứng với hai cấu hình điện cực gồm cấu hình 2 điện cực và cấu hình 3 điện cực [42].

Các cảm biến sinh học dựa trên cấu hình 2 điện cực và 3 điện cực có thể được mô hình hóa bằng mạch Randles, như minh họa trong Hình 3. Trong cấu hình 2 điện cực (hình 3A), do trở kháng giữa điện cực làm việc và điện cực đối được thực hiện trên một dải tần số rộng để phân tích các thay đổi về trở kháng liên quan đến sự tương tác sinh hóa

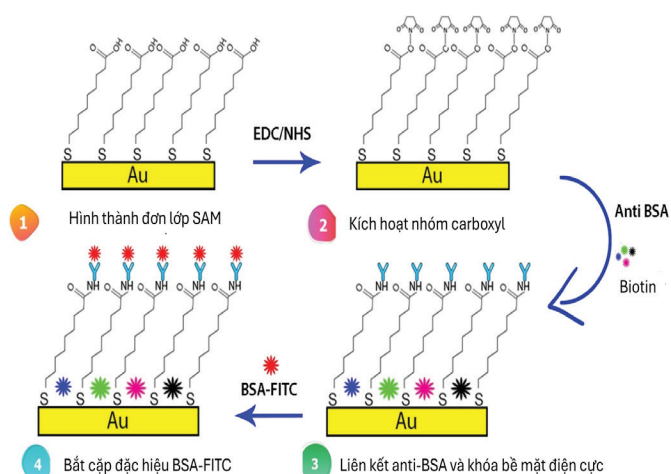
trên bề mặt điện cực. Mô hình mạch Randles cho cảm biến 2 điện cực bao gồm điện dung lớp kép (C_{dl}) và điện trở truyền điện tích (R_{ct}) nối song song. Thêm vào đó là điện trở dung dịch (R_s) nối tiếp với mạch song song này. Do R_s thường lớn hơn nhiều so với trở kháng bề mặt, sự thay đổi trong tổng trở kháng chủ yếu bị ảnh hưởng bởi R_s , dẫn đến độ nhạy thấp của cảm biến so với cấu hình 3 điện cực cũng được xét tới trong cùng nghiên cứu.



Hình 3. Mô hình của các cấu hình điện cực sử dụng trong cảm biến sinh học: (A) Mô hình 2 điện cực; (B) Mô hình 3 điện cực [42].

Ngược lại, cảm biến sinh học với cấu hình 3-điện cực (hình 3B) bao gồm một điện cực tham chiếu có điện thế ổn định, cho phép duy trì điện áp không đổi (V_{ref}) giữa điện cực tham chiếu và điện cực làm việc. Điều này giúp tối thiểu hóa ảnh hưởng của điện trở dung dịch (R_s), làm cho R_s gần như bằng 0 trong mô hình, và do đó, tổng trở kháng đo được chủ yếu phản ánh trở kháng bề mặt trên điện cực làm việc. Kết quả là độ nhạy của cảm biến được cải thiện rõ rệt. Trong cấu hình này, tổng trở kháng (Z) được tính toán bằng cách cộng điện trở bề mặt ($Z_{surface}$) và điện trở dung dịch (R_s), nhưng vì R_s gần như bằng 0 nên Z chủ yếu phản ánh trở kháng bề mặt. Trở kháng bề mặt được phân tích từ điện dung lớp kép (Z_{Cdl}) và điện trở truyền điện tích (R_{ct}), với Z_{Cdl} được tính dựa trên tần số góc của tín hiệu kích thích vào cảm biến sinh học.

Phương pháp biến tính bề mặt sử dụng cho các cấu trúc cảm biến sinh học cho phép đo trở kháng: Quá trình chức năng hóa bề mặt điện cực sử dụng cho các phép đo trở kháng về cơ bản được chia thành bốn bước chính: (1) hình thành lớp đơn phân tử tự sắp xếp, (2) kích hoạt nhóm carboxyl, (3) cố định kháng thể và khóa bề mặt, và (4) bắt cặp với kháng nguyên đích. Trong nghiên cứu của mình, C.T. Nhu và cs (2024) [42] đã thực hiện quá trình chức năng hóa bề mặt dựa trên cấu trúc điện cực vàng, sử dụng dung dịch 11 - MUA để cấu thành nên đơn lớp tự lắp ghép, và sử dụng cặp kháng nguyên - kháng thể để thử nghiệm đánh giá hiệu quả nghiên cứu là cặp Anti-BSA và BSA-FITC (hình 4). Kết quả được đánh giá thông qua phương pháp trở kháng và phương pháp quang là phương pháp đối chứng.



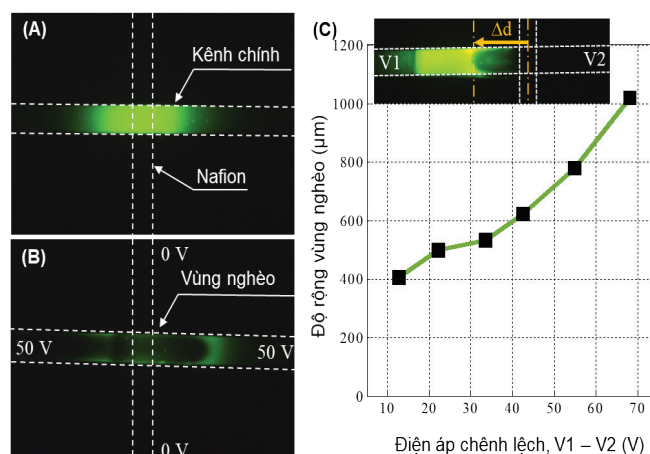
Hình 4. Quy trình biến tính bề mặt điện cực và khóa bề mặt để bắt cặp với protein đích trong cảm biến miễn dịch [42].

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Phát triển nền tảng tập trung protein trên chip

Trong nghiên cứu của C.T. Nhu và cs (2022) [39], chip vi lưu tập trung protein hoạt động theo hai chế độ chính bao gồm chế độ làm nghèo và chế độ làm giàu protein. Trong chế độ đầu tiên, các kênh siêu nhỏ và kênh chính được lấp đầy bằng dung dịch đệm và dung dịch protein-FITC IgG tương ứng, trong khi các kênh phụ chứa dung dịch PBS 1X. Hỗn hợp dung dịch protein-FITC IgG và PBS 1X với tỷ lệ 1:1 được bơm vào kênh chính. Sau khi chuẩn bị, cấu trúc kênh dẫn vi lưu được quan sát dưới kính hiển vi và kết nối với nguồn điện qua các điện cực kim loại. Ban đầu, hình ảnh huỳnh quang cho thấy sự phân bố đồng đều của các phân tử protein trong kênh chính (hình 5A). Khi áp dụng điện áp 50 V cho kênh chính và 0 V cho các kênh đệm, các phân tử protein di chuyển về hai đầu của kênh chính do lực điện di mao quản. Tại vùng nghèo của kênh chính, nơi mà màng Nafion thực hiện nhiệm vụ kết nối điện giữa các kênh phụ và kênh chính, hiện tượng tối dần xuất hiện do các phân tử protein bị đẩy ra khỏi khu vực này (hình 5B). Kết quả cho thấy, vùng nghèo hình thành ở cả hai bên của kênh chính nhờ cấu trúc cổng đôi, mang lại hiệu quả tập trung đáng kể.

Một thiết lập tương tự đã được thực hiện để khảo sát chế độ thứ hai trong nghiên cứu này là chế độ tập trung, với sự điều chỉnh quan trọng là thay đổi điện áp của kênh chính để tạo ra sự chênh lệch điện áp giữa hai đầu của kênh chính, được ký hiệu là V_1 - V_2 . Tham số này đóng vai trò quan trọng trong các thí nghiệm tập trung vì nó xác định mối quan hệ giữa yếu tố tập trung (cường độ huỳnh quang) và kích thước của vùng nghèo (Δd) với sự chênh lệch điện áp. Trong các thí nghiệm, kết quả cho thấy, việc giữ cố định điện thế V_2 ở



Hình 5. Kết quả của chế độ tập trung: (A) Cấu trúc ban đầu không áp dụng điện áp; (B) Chip vi lưu được áp dụng điện áp 50 V ở hai đầu của kênh mẫu và 0 V ở hai đầu của các kênh đệm, sau 60 giây; (C) Sự phụ thuộc của kích thước vùng nghèo vào sự chênh lệch điện áp giữa hai đầu của kênh chính trong cấu trúc tập trung lưỡng cổng [39].

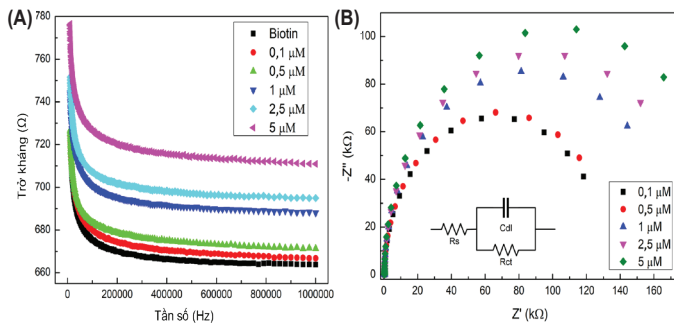
mức 25 V và thay đổi V_1 để tạo ra các mức chênh lệch điện áp khác nhau dẫn tới sự chênh lệch điện áp tăng lên. Kết quả là kích thước của vùng nghèo cũng tăng đáng kể, từ 300 lên hơn 1000 μm khi chênh lệch điện áp thay đổi từ 11 lên 68 V (hình 5C). Điều này có thể được giải thích là do sự gia tăng chênh lệch điện áp dẫn đến lực điện di mao quản mạnh hơn, làm cho protein-FITC và các ion di chuyển gần hơn đến kho chứa có điện áp cao hơn (V_1) và xa hơn khỏi màng chọn lọc ion. Bên cạnh đó, cường độ huỳnh quang của các hình ảnh thu được đã được chúng tôi thực hiện đo bằng phần mềm ImageJ bằng cách xét các cửa sổ giống nhau trong các hình ảnh. Kết quả cho thấy, cường độ huỳnh quang của vùng tập trung tăng gần gấp 3 lần khi chênh lệch điện áp thay đổi từ 0 lên 150 V. Sự gia tăng chênh lệch điện áp tạo ra dòng điện di, chống lại sự mở rộng của vùng nghèo và dẫn đến việc các protein di chuyển về phía vùng nghèo, giữ chúng tại đó. Cuối cùng, lực điện di và lực điện di mao quản đạt trạng thái cân bằng, tạo ra một vùng tập trung protein ổn định tại khoảng cách Δd từ vị trí màng Nafion trong kênh dẫn chính. Mặc dù cường độ huỳnh quang tỷ lệ thuận với sự chênh lệch điện áp, việc áp dụng điện áp quá cao có thể gây ảnh hưởng không tốt đến hoạt động của protein và sự ổn định của vùng tập trung.

3.2. Phát triển nền tảng cảm biến miễn dịch phát hiện protein

Đánh giá cấu hình cảm biến trở kháng 2-3 điện cực: Trong nghiên cứu của C.T. Nhu và cs (2024) [42] đã được công bố năm 2024 với nội dung khảo sát, đánh giá hai cấu hình điện cực cảm biến trở kháng gồm cấu hình 2 điện cực và cấu hình 3 điện cực cho thấy khả năng ứng dụng và tích

hợp của cả 2 cấu hình này trong các cấu trúc cảm biến sinh học cho các hệ vi lưu. Trong cấu hình 2 điện cực, kết quả đo phổ trở kháng đã được báo cáo ứng với các nồng độ khác nhau của protein BSA trên bề mặt điện cực vàng, với tín hiệu kích thích biên độ 50 mV và dải tần số từ 10 kHz đến 1 MHz. Khi nồng độ BSA tăng, trở kháng tương ứng cũng tăng, với giá trị lớn nhất ở nồng độ 5 mM, đạt 780 Ω tại tần số 10 kHz và giảm xuống dưới 720 Ω tại 1 MHz (hình 6). Đặc biệt, ở nồng độ BSA thấp hơn, sự giảm trở kháng diễn ra với độ dốc lớn hơn. Kết quả này giải thích rằng, trong mô hình 2 điện cực, tổng trở kháng được xác định bởi trở kháng bề mặt và điện trở dung dịch, với điện trở dung dịch giữ nguyên.

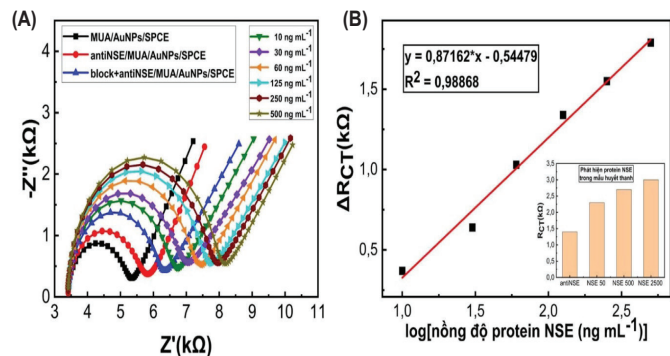
Trong khi đó, khi thực hiện đo phổ trở kháng điện hóa (EIS) trên cấu hình 3 - điện cực, kết quả cho thấy, khả năng đo chính xác trở kháng bề mặt do sự gần kề giữa điện cực tham chiếu và điện cực làm việc. Sử dụng mô hình mạch Randles để khớp với dữ liệu trở kháng, trở kháng bề mặt tỷ lệ thuận với nồng độ BSA, điện trở dung dịch nhỏ hơn nhiều so với trở kháng bề mặt ở tần số thấp. Phần mềm PStTrace 5.9 đã được sử dụng để tính toán R_{ct} cho thấy, khi nồng độ BSA tăng từ 0,1 lên 5 mM, sự thay đổi trong R_{ct} từ 13,22 đến 20,69 k Ω , với độ nhạy 7,2 k Ω /mM trong khoảng này (hình 6). Kết quả thực nghiệm được báo cáo đã chứng minh hiệu suất của cả hai cấu hình cảm biến trong việc phát hiện protein. Cảm biến 2 - điện cực thể hiện sự gia tăng tổng trở kháng khi nồng độ BSA tăng, với độ nhạy 12 Ω /mM ở tần số 300 kHz. Tuy nhiên, do không có điện cực tham chiếu, chi tiết tham số điện của trở kháng bề mặt không thể được khảo sát và đánh giá chính xác trong cấu hình 2 - điện cực.



Hình 6. Biểu đồ Bode tương ứng với sự thay đổi nồng độ protein từ 0,1 đến 5 mM trong việc bắt cặp và phát hiện BSA-FITC trên điện cực vàng (A); biểu đồ Nyquist của các nồng độ BSA bằng 0,1, 0,5, 1, 2,5 và 5 mM dựa trên mô hình mạch Randles (B) [42].

Thử nghiệm phát triển bề mặt cảm biến: Trong báo cáo kết quả nghiên cứu của L.H.T. Thuy và cs (2023) [43], nhóm nghiên cứu đã đề xuất và thử nghiệm quy trình chuẩn bị cảm biến miễn dịch được tiến hành sử dụng 11-MUA cho đơn lớp tự lắp ghép và protein NSE là đối tượng đích (hình 7). Kết quả phân tích trở kháng điện hóa (EIS) được minh

họa trong hình 7 cho thấy, sự thay đổi điện trở chuyển giao điện tích (R_{ct}) qua từng bước chế tạo của cảm biến miễn dịch. Khi lớp hạt nano vàng (AuNPs) được phủ lên bề mặt các điện cực carbon, R_{ct} giảm xuống, cho thấy sự cải thiện đáng kể về khả năng dẫn điện của điện cực. Tuy nhiên, khi các phân tử 11-MUA được cố định để tạo thành đơn lớp tự sắp xếp (SAM) trên bề mặt, R_{ct} tăng lên đến 1,6 k Ω do độ dẫn điện thấp của SAM gây cản trở quá trình chuyển giao điện tích giữa điện cực và dung dịch. Tiếp theo, sau khi kích hoạt nhóm carboxyl của SAM và cố định kháng thể chống NSE, R_{ct} tăng thêm, đạt mức 2,0 k Ω , và sau khi chặn các vị trí không đặc hiệu bằng protein BSA, R_{ct} tiếp tục tăng lên 2,7 k Ω . Sự tăng này phản ánh sự thành công trong quá trình cố định từng lớp vật liệu lên bề mặt điện cực, làm tăng trở kháng và cản trở quá trình trao đổi electron giữa điện cực và dung dịch. Khi tiếp xúc với các nồng độ protein NSE khác nhau, R_{ct} tiếp tục tăng từ 3,1 đến 4,5 k Ω , tương ứng với các nồng độ từ 10 đến 500 ng/ml, chỉ ra sự hình thành các phức hợp miễn dịch ổn định và cản trở quá trình dẫn điện do lớp protein kỵ nước. Mối quan hệ tuyến tính giữa sự thay đổi R_{ct} và logarithm của nồng độ NSE được biểu diễn bằng phương trình $\Delta R_{ct} = 0,87162 \times \log \text{NSE} - 0,54479$, với hệ số tương quan cao, đạt 0,98868. Giới hạn phát hiện (LOD) của cảm biến được báo cáo là 3,19 ng/ml, cho thấy khả năng phát hiện NSE ở nồng độ rất thấp, với độ chính xác cao.

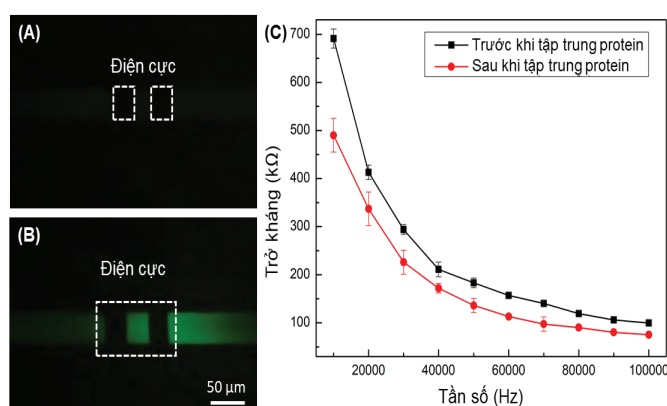


Hình 7. Biểu đồ phổ trở kháng điện hóa (EIS) của (A) quá trình biến đổi bề mặt điện cực và quá trình thử nghiệm với các nồng độ khác nhau của protein NSE; (B) ΔR_{ct} theo nồng độ protein NSE [43].

Kết quả thí nghiệm trên mẫu huyết thanh cũng xác nhận khả năng phát hiện NSE trong các điều kiện thực tế, với sự thay đổi rõ rệt trong biểu đồ EIS tương ứng với các nồng độ protein khác nhau. Các mẫu NSE chuẩn với nồng độ 50, 500 và 2,500 ng/ml được pha loãng trong mẫu huyết thanh. Điện cực đã được chức năng hóa ban đầu có giá trị R_{ct} là 1,4 k Ω . Hình chèn trên hình 7B cho thấy, sự thay đổi trong biểu đồ EIS theo các nồng độ khác nhau của protein NSE trong mẫu huyết thanh. Các giá trị R_{ct} được ghi nhận trong báo cáo lần lượt là 2,3, 2,7 và 3,0 k Ω tương ứng với nồng độ được thử nghiệm. Điều này chứng tỏ cảm biến miễn dịch dựa trên cấu trúc SAM/AuNPs/SPCE là một công cụ chẩn đoán tiềm năng cho các ứng dụng y sinh.

3.3. Nền tảng chip vi lưu tích hợp cấu trúc tập trung và phát hiện protein

Trong báo cáo của C.T. Nhu và cs (2023a) [40], bộ tập trung và các điện cực cảm biến trở kháng được chế tạo bằng cách sử dụng kỹ thuật quang khắc mềm và quy trình đúc, với quá trình chế tạo điện cực được thực hiện qua 6 bước chi tiết như minh họa trong hình 8A [44]. Sự thay đổi trở kháng trong vùng tập trung protein đã được nghiên cứu bằng cách sử dụng dung dịch protein BSA-FITC với nồng độ ban đầu là 5 μM . Ban đầu, kênh mẫu được đổ đầy dung dịch này, với màu sắc của kênh mẫu và khu vực điện cực khá tối do nồng độ protein thấp, như minh họa trong hình 8A. Sau khi áp dụng điện thế vào hai đầu của các vi kênh, các phân tử protein đã di chuyển và tập trung tại khu vực điện cực cảm biến, kết quả là sự gia tăng đáng kể của tín hiệu huỳnh quang tại khu vực điện cực, như thể hiện trong hình 8B.



Hình 8. Sự thay đổi tín hiệu huỳnh quang của khu vực điện cực trước và sau khi tập trung protein trong kênh mẫu [44].

Trở kháng giữa hai điện cực được đo trước và sau quá trình tập trung protein, và kết quả cho thấy trở kháng đã giảm đáng kể sau khi protein tập trung tại khu vực cảm biến. Hình 8C minh họa rõ ràng hai đường cong trở kháng tách biệt trong khoảng tần số từ 10 đến 100 kHz. Đặc biệt, trở kháng ở dải tần số cao thấp hơn và ổn định hơn so với dải tần số thấp. Những thay đổi này có thể được giải thích bằng mô hình Randles đơn giản hóa, như mô tả trong hình 8C, trong đó R_s đại diện cho điện trở của dung dịch protein, còn R_{ct} và C_{dl} lần lượt là điện trở chuyển giao điện tích và điện dung lớp kép giữa bề mặt điện cực vàng và dung dịch protein. Ở tần số thấp, trở kháng của lớp điện dung kép cao, dẫn đến tổng trở kháng cao, trong khi ở tần số cao, ảnh hưởng của C_{dl} giảm dần, dẫn đến tổng trở kháng thấp hơn. Trong quá trình tập trung, các phân tử protein với vai trò là ion âm, cùng với các anion từ dung dịch đệm, đã di chuyển về phía khu vực điện cực. Sự gia tăng mật độ ion tại khu vực này đã góp phần làm tăng độ dẫn điện của dung dịch xung quanh điện cực, dẫn đến giảm điện trở dung dịch R_s . Ở tần số cao, tổng trở kháng chủ yếu phụ thuộc vào điện trở của dung dịch. Với các kết quả đạt được, vị trí của vùng tập trung protein có thể được nhận diện thông qua các phép đo trở kháng thực hiện trên các điện cực tích hợp trong kênh.

4. Kết luận

Một số thành tựu về nền tảng chip vi lưu làm giàu và phát hiện protein được công bố trong các báo cáo gần đây đã chứng minh tiềm năng của nền tảng vi lưu tiên tiến, tích hợp kỹ thuật ICP qua kênh nano và cảm biến trở kháng để phát hiện protein với độ nhạy cao. Thông qua việc tối ưu hóa cấu trúc tập trung nhờ hiệu ứng ICP và sử dụng cấu hình cảm biến trở kháng ba điện cực, các nghiên cứu gần đây đã đạt được cải thiện đáng kể về giới hạn phát hiện và độ chính xác trong phát hiện các dấu ấn sinh học protein. Phương pháp tích hợp này, đã được thử nghiệm trên các nồng độ protein khác nhau và xác thực bằng kỹ thuật phổ trở kháng điện hóa, hứa hẹn cho các ứng dụng chẩn đoán nhanh chóng và chi phí thấp trong lâm sàng. Kết quả nghiên cứu hỗ trợ khả năng ứng dụng nền tảng này vào các thiết bị chẩn đoán tại chỗ, cung cấp giải pháp để mở rộng cho việc phát hiện và theo dõi bệnh sớm, đặc biệt trong lĩnh vực ung thư. Hướng phát triển trong tương lai được xác định tập trung vào khả năng đo đồng thời nhiều dấu ấn sinh học và tiêu hình hóa thiết bị, tạo tiền đề cho các công cụ chẩn đoán linh hoạt và độ nhạy cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] T.V. Quoc, V.N. Ngoc, T.T. Bui, et al. (2019), "High-frequency interdigitated array electrode-based capacitive biosensor for protein detection", *Biochip Journal*, **13**(4), pp.403-415, DOI: 10.1007/s13206-019-3412-3.
- [2] J. Han, Y. Zhuo, Y.Q. Chai, et al. (2012), "Novel electrochemical catalysis as signal amplified strategy for label-free detection of neuron-specific enolase", *Biosensors and Bioelectronics*, **31**(1), pp.399-405, DOI: 10.1016/j.bios.2011.10.055.
- [3] K. Sadrjavadi, M. Taran, A. Fattahi, et al. (2022), "A microelectrode system for simple measurement of neuron specific enolase with photolithography technique", *Microchemical Journal*, **182**(3), DOI: 10.1016/j.microc.2022.107889.
- [4] D. Carney, D. Ihde, M. Cohen, et al. (1982), "Serum neuron-specific enolase: A marker for disease extent and response to therapy of small-cell lung cancer", *The Lancet*, **319**(8272), pp.583-585, DOI: 10.1016/S0140-6736(82)91748-2.
- [5] L. Gervais, N.D. Rooij, E. Delamarche (2011), "Microfluidic chips for point-of-care immunodiagnosics", *Advanced Materials*, **23**(24), DOI: 10.1002/adma.201100464.
- [6] X. Ou, P. Chen, X. Huang, et al. (2020), "Microfluidic chip electrophoresis for biochemical analysis", *Journal of Separation Science*, **43**(1), pp.258-270, DOI: 10.1002/jssc.201900758.
- [7] C.W. Chi, A.R. Ahmed, Z.D. Korkut, et al. (2016), "Microfluidic cell chips for high-throughput drug screening", *Bioanalysis*, **8**(9), pp.921-937, DOI: 10.4155/bio-2016-0028.
- [8] R. Pol, F. Céspedes, D. Gabriel, et al. (2017), "Microfluidic lab-on-a-chip platforms for environmental monitoring", *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **95**, pp.62-68, DOI: 10.1016/j.trac.2017.08.001.
- [9] K.S. Elvira, X.C. Solvas, R.C.R. Wootton, et al. (2013), "The past, present and potential for microfluidic reactor technology in chemical synthesis", *Nature Chemistry*, **5**(11), pp.905-915, DOI: 10.1038/nchem.1753.
- [10] Q. Guo, L. Zhang, J. Liu, et al. (2021), "Multifunctional microfluidic chip for cancer diagnosis and treatment", *Nanotechnology*, **32**(1), pp.73-89, DOI: 10.1039/c9nr04961a.

- [11] J.L.G. Cordero, S.J. Maerkl (2020), "Microfluidic systems for cancer diagnostics", *Current Opinion in Biotechnology*, **65**, pp.37-44, DOI: 10.1016/j.copbio.2019.11.022.
- [12] B. Ma, Y.Z. Song, J.C. Niu, et al. (2016), "Highly efficient sample stacking by enhanced field amplification on a simple paper device", *Lab on a Chip*, **16**(18), pp.3460-3465, DOI: 10.1039/C6LC00633G.
- [13] B. Jung, R. Bharadwaj, J.G. Santiago (2003), "Thousandfold signal increase using field-amplified sample stacking for on-chip electrophoresis", *Electrophoresis*, **24**(19-20), pp.3476-3483, DOI: 10.1002/elps.200305611.
- [14] P. Gebauer, Z. Malá, P. Boček (2011), "Recent progress in analytical capillary isotachopheresis", *Electrophoresis*, **32**(1), pp.83-89, DOI: 10.1002/elps.201000304.
- [15] B. Jung, R. Bharadwaj, J.G. Santiago (2006), "On-chip millionfold sample stacking using transient isotachopheresis", *Analytical Chemistry*, **78**(7), pp.2319-2327, DOI: 10.1021/ac051659w.
- [16] Y. Chen, H.F. Wu, T.G. Amstislavskaya, et al. (2016), "A simple electrokinetic protein preconcentrator utilising nano-interstices", *Biomicrofluidics*, **10**(2), DOI: 10.1063/1.4946768.
- [17] K. Liao, M. Tsegaye, V. Chaurey, et al. (2012), "Nano-constriction device for rapid protein preconcentration in physiological media through a balance of electrokinetic forces", *Electrophoresis*, **33**(13), pp.1958-1966, DOI: 10.1002/elps.201100707.
- [18] S. Gautam, K.C. Loh (2012), "Immobilization of hydrophobic peptidic ligands to hydrophilic chromatographic matrix: A preconcentration approach", *Analytical Biochemistry*, **423**(2), pp.202-209, DOI: 10.1016/j.ab.2012.01.020.
- [19] M. Kim, T. Kim (2013), "Integration of nanoporous membranes into microfluidic devices: Electrokinetic bio-sample pre-concentration", *The Analyst*, **138**(20), DOI: 10.1039/c3an00965c.
- [20] H.F. Wu, T.G. Amstislavskaya, P.H. Chen, et al. (2016), "Preconcentration-enhanced immunosensing for whole human cancer cell lysate based on a nanofluidic preconcentrator", *BioChip Journal*, **10**(3), pp.159-166, DOI: 10.1007/s13206-016-0203-y.
- [21] C.H. Chang, R.J. Yang (2016), "Enhanced sample preconcentration in microfluidic chip using graphene oxide-Nafion membrane", *Microfluidics and Nanofluidics*, **20**(12), DOI: 10.1007/s10404-016-1835-x.
- [22] E.T.S.G.D. Silva, D.E.P. Souto, J.T.C. Barragan, et al. (2017), "Electrochemical biosensors in point-of-care devices: Recent advances and future trends", *ChemElectroChem*, **4**(4), pp.778-794, DOI: 10.1002/celec.201600758.
- [23] L.G. Gálvez, R.D. Caño, I.M. Luque, et al. (2022), "Electrochemiluminescent nanostructured DNA biosensor for SARS-CoV-2 detection", *Talanta*, **240**, DOI: 10.1016/j.talanta.2021.123203.
- [24] I.H. Cho, D.H. Kim, S. Park (2020), "Electrochemical biosensors: Perspective on functional nanomaterials for on-site analysis", *Biomaterials Research*, **24**(1), DOI: 10.1186/s40824-019-0181-y.
- [25] H. Zheng, X. Ma, L. Chen, et al. (2013), "Label-free electrochemical impedance biosensor for sequence-specific recognition of double-stranded DNA", *Analytical Methods*, **5**(19), DOI: 10.1039/c3ay40972d.
- [26] Z. Wang, Z. Dai (2015), "Carbon nanomaterial-based electrochemical biosensors: An overview", *Nanoscale*, **7**(15), pp.6420-6431, DOI: 10.1039/C5NR00585J.
- [27] S.K. Krishnan, E. Singh, P. Singh, et al. (2019), "A review on graphene-based nanocomposites for electrochemical and fluorescent biosensors", *RSC Advances*, **9**(16), pp.8778-8881, DOI: 10.1039/C8RA09577A.
- [28] D. Grieshaber, R. MacKenzie, J. Vörös, et al. (2008), "Electrochemical biosensors - sensor principles and architectures", *Sensors*, **8**(3), pp.1400-1458, DOI: 10.3390/s80314000.
- [29] X. Du, Z. Zhang, X. Zheng, et al. (2020), "An electrochemical biosensor for the detection of epithelial-mesenchymal transition", *Nature Communications*, **11**(1), DOI: 10.1038/s41467-019-14037-w.
- [30] E.J. Sin, Y.S. Moon, Y.K. Lee, et al. (2012), "Surface modification of aluminum oxide for biosensing application", *Biomedical Engineering: Applications, Basis and Communications*, **24**(2), pp.111-116, DOI: 10.4015/S1016237212500093.
- [31] S. Pandey (2022), "Advance nanomaterials for biosensors", *Biosensors*, **12**(4), DOI: 10.3390/bios12040219.
- [32] C. Fan, B. Jiang, W. Shi, et al. (2022), "Tri-channel electrochemical immunobiosensor for combined detections of multiple exosome biomarkers of lung cancer", *Biosensors*, **12**(7), DOI: 10.3390/bios12070435.
- [33] C. Karaman, Ö.S. Bölükbaşı, B.B. Yola, et al. (2022), "Electrochemical neuron-specific enolase (NSE) immunosensor based on CoFe₂O₄@Ag nanocomposite and AuNPs@MoS₂/rGO", *Analytica Chimica Acta*, **1200**, DOI: 10.1016/j.aca.2022.339609.
- [34] Y.C. Wang, A.L. Stevens, J. Han (2005), "Million-fold preconcentration of proteins and peptides by nanofluidic filter", *Analytical Chemistry*, **77**(14), pp.4293-4299, DOI: 10.1021/ac050321z.
- [35] C. Jen, T.G. Amstislavskaya, C. Kuo, et al. (2014), "Protein preconcentration using nanostructures generated by nanoparticle-assisted electric breakdown at junction gaps", *PLOS ONE*, **9**(7), DOI: 10.1371/journal.pone.0102050.
- [36] Q. Pu, J. Yun, H. Temkin, et al. (2004), "Ion-enrichment and ion-depletion effect of nanochannel structures", *Nano Letters*, **4**(6), pp.1099-1103, DOI: 10.1021/nl0494811.
- [37] J. Lichtenberg, E. Verpoorte, N.F.D. Rooij (2001), "Sample preconcentration by field amplification stacking for microchip-based capillary electrophoresis", *Electrophoresis*, **22**(2), pp.258-271, DOI: 10.1002/1522-2683(200101)22:2<258::AID-ELPS258>3.0.CO;2-4.
- [38] J.A. Wells, H. Swerdlow (2003), "Fluidic preconcentrator device for capillary electrophoresis of proteins", *Analytical Chemistry*, **75**(19), pp.5207-5212, DOI: 10.1021/ac0300892.
- [39] C.T. Nhu, P.N. Dang, H.T. Thanh, et al. (2022), "A protein preconcentration platform utilizing dual gate structure and ion-selective membrane", *2022 IEEE 9th International Conference on Communications and Electronics (ICCE)*, pp.195-198, DOI: 10.1109/ICCE55644.2022.9852029.
- [40] C.T. Nhu, P.N. Dang, L.D. Quang, et al. (2023a), "Development of a microfluidic chip for protein preconcentration using dual gate structure and nanomembrane", *Microsystem Technologies*, **29**(12), pp.1757-1767, DOI: 10.1007/s00542-023-05565-z.
- [41] S.H. Ko, Y.A. Song, S.J. Kim, et al. (2012), "Nanofluidic preconcentration device in a straight microchannel using ion concentration polarisation", *Lab on a Chip*, **12**(21), pp.4472-4482, DOI: 10.1039/c2lc21238b.
- [42] C.T. Nhu, T. Vu Quoc, L.D. Quang, et al. (2024), "Comparison of faradaic and non-faradaic impedance biosensors using 2-electrode and 3-electrode configurations for the determination of bovine serum albumin (BSA)", *Analytical Letters*, **57**(17), pp.2959-2971, DOI: 10.1080/00032719.2024.2307464.
- [43] L.H.T. Thuy, P.N. Dang, C.T. Nhu, et al. (2023), "Novel electrochemical immunosensing structure based on a functionalized carbon electrode with 11-MUA for NSE protein detection", *2023 1st International Conference on Health Science and Technology*, pp.1-4, DOI: 10.1109/ICHST59286.2023.10565337.
- [44] C.T. Nhu, L.D. Quang, C.P. Jen, et al. (2023a), "A novel approach to detect protein utilizing the microfluidic pre-concentrator based on the impedance measurement method", *2023 1st International Conference on Health Science and Technology*, pp.1-5, DOI: 10.1109/ICHST59286.2023.10565376.