

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

Nguyễn Thu Hằng

**NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN CẤU TRÚC ORGAN-ON-A-CHIP
ỨNG DỤNG TRONG KỸ THUẬT HỖ TRỢ SINH SẢN DỰA
TRÊN NỀN TẢNG VI HỆ THỐNG**

Ngành đào tạo: Kỹ thuật điện tử

Mã số: 9520203

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ
NGÀNH KỸ THUẬT ĐIỆN TỬ**

Hà Nội – 2026

Công trình được hoàn thành tại: Trường Đại học Công nghệ,
Đại học Quốc gia Hà Nội

Người hướng dẫn khoa học: GS.TS. Chử Đức Trình

Phản biện:

Phản biện:

Phản biện:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng cấp Đại học Quốc gia
chăm luận án tiến sĩ họp tại ... vào hồi ... ngày...

NGHIÊN CỨU SINH

CÁN BỘ HƯỚNG DẪN

Nguyễn Thu Hằng

Chử Đức Trình

XÁC NHẬN CỦA ĐƠN VỊ ĐÀO TẠO

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Trung tâm Thông tin - Thư viện, Đại học Quốc gia Hà Nội

MỞ ĐẦU

A. Bối cảnh nghiên cứu và lý do chọn đề tài

Vô sinh – hiếm muộn đang trở thành một vấn đề y tế toàn cầu, ảnh hưởng đến hàng triệu cặp vợ chồng và đặt ra những thách thức lớn đối với các hệ thống chăm sóc sức khỏe sinh sản. Trong bối cảnh này, trưởng thành trứng non trong ống nghiệm (IVM) ngày càng thu hút sự quan tâm nhờ các ưu điểm nổi bật như giảm kích thích buồng trứng, hạn chế gánh nặng cho người bệnh và giảm nguy cơ hội chứng quá kích buồng trứng. Tuy nhiên, các quy trình IVM hiện nay vẫn phụ thuộc nhiều vào thao tác thủ công, đánh giá chủ quan và hệ thống nuôi cấy tĩnh, chưa thể tái tạo đầy đủ vi môi trường sinh lý động trong cơ thể, dẫn đến hiệu quả nuôi cấy chưa tối ưu.

Những tiến bộ gần đây trong công nghệ vi lưu, organ-on-chip, trí tuệ nhân tạo và điện di điện môi (DEP) mở ra cơ hội phát triển các nền tảng mô phỏng vi môi trường sinh lý kết hợp tự động hóa, cho phép nuôi cấy động, tăng cường trao đổi chất, đồng thời theo dõi và lựa chọn noãn một cách khách quan và chính xác. Cách tiếp cận này hứa hẹn nâng cao hiệu quả trưởng thành, ổn định vi môi trường nuôi cấy và tính chuẩn hóa của các quy trình trong các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản (ART) thế hệ mới.

B. Mục tiêu của luận án

Mục tiêu chính của nghiên cứu là thiết kế, chế tạo và tối ưu hóa một hệ thống vi lưu tích hợp, cung cấp môi trường vi mô kiểm soát chặt chẽ và gần với điều kiện sinh lý thực tế cho nuôi cấy và thao tác noãn trong ART. Hệ thống cho phép nuôi cấy động các noãn đồng thời với tế bào hạt, kết hợp với giám sát thông minh dựa trên học máy, tách noãn tự động trên chip và lựa chọn noãn không xâm lấn dựa trên DEP. Cách tiếp cận này hướng tới việc nâng cao hiệu quả trao đổi chất và

loại bỏ chất thải trong quá trình nuôi cấy, duy trì vi môi trường ổn định, đồng thời hỗ trợ đánh giá khách quan và tự động hóa quy trình. Nhờ đó, hệ thống giúp tăng cường hiệu quả trưởng thành của noãn và chuẩn hóa các quy trình nuôi cấy, xử lý và lựa chọn noãn trong các kỹ thuật ART hiện đại.

C. Đóng góp của luận án

Luận án đã phát triển một hệ thống vi lưu tích hợp phục vụ hỗ trợ sinh sản, kết hợp nuôi cấy vi lưu, thao tác noãn tự động và lựa chọn noãn không xâm lấn. Hệ thống cho phép nuôi cấy động noãn cùng tế bào hạt, hỗ trợ trao đổi chất, duy trì vi môi trường ổn định và đánh giá noãn ở cấp độ đơn tế bào, qua đó góp phần nâng cao hiệu quả trưởng thành trong quy trình IVM. Bên cạnh đó, việc tích hợp phân tích hình ảnh thời gian thực và học máy giúp giám sát quá trình trưởng thành noãn một cách thông minh, thông qua định lượng sự mở rộng của tế bào hạt và các thay đổi hình thái trong quá trình nuôi cấy. Luận án cũng thiết kế và kiểm chứng hệ thống tách noãn tự động trên chip với thông lượng cao, đồng thời phát triển chip vi lưu tích hợp DEP để lựa chọn noãn không xâm lấn dựa trên đặc tính điện của tế bào. Nhìn chung, các kết quả nghiên cứu góp phần chuẩn hóa các bước nuôi cấy, xử lý, theo dõi và lựa chọn noãn, đồng thời mở ra hướng phát triển các hệ thống vi lưu tích hợp công nghệ y sinh hiện đại cho các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản thế hệ mới.

D. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn

Về mặt khoa học, luận án đóng góp vào việc hiểu rõ động học vi lưu, tương tác giữa dòng chảy và tế bào, cũng như các thao tác điện di điện môi trong các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản. Nghiên cứu này cũng thúc đẩy việc tích hợp hệ thống organ-on-chip (OoC), phân tích thông minh bằng trí tuệ nhân tạo và thao tác tế bào dựa trên DEP trong một nền

tăng vi lưu cho nghiên cứu y sinh. Về mặt thực tiễn, nền tảng vi lưu được phát triển trong luận án cung cấp cơ sở cho các quy trình hỗ trợ sinh sản có thể chuẩn hóa, mở rộng quy mô và tích hợp tự động, giúp kết nối giữa các công nghệ kỹ thuật vi lưu và ứng dụng thực tế trong chăm sóc sinh sản.

E. Phương pháp và phạm vi nghiên cứu

Nghiên cứu này sử dụng sự kết hợp giữa mô phỏng số, thiết kế, chế tạo và kiểm chứng thực nghiệm hệ thống vi lưu tích hợp cho quy trình IVM. Phạm vi nghiên cứu bao gồm thiết kế và chế tạo chip vi lưu, khảo sát dòng chảy, phân bố ứng suất cắt và hành vi tế bào dưới tác động điện di điện môi (DEP). Các chức năng của hệ thống được đánh giá bằng thí nghiệm với noãn lợn làm mẫu sinh học, nuôi cấy động đồng thời noãn với tế bào hạt nhằm phân nào tái tạo vi môi trường trong cơ thể, tách noãn tự động trên chip và lựa chọn noãn sử dụng kỹ thuật DEP. Phương pháp này cung cấp cơ sở toàn diện để kiểm tra hiệu quả, tính khả thi và khả năng tự động hóa của nền tảng vi lưu trong các ứng dụng hỗ trợ sinh sản hiện đại.

F. Bố cục của luận án

CHƯƠNG 1. GIỚI THIỆU

1.1. Bối cảnh nghiên cứu

Vô sinh – hiếm muộn đang trở thành một vấn đề y tế quan trọng trên toàn cầu, ảnh hưởng đến hàng triệu cặp vợ chồng và tạo ra những thách thức lớn đối với hệ thống chăm sóc sức khỏe sinh sản. Trong bối cảnh này, trưởng thành trứng non trong ống nghiệm (IVM) được phát triển như một phương pháp ít xâm lấn, giúp giảm kích thích buồng trứng, hạn chế tác dụng phụ và rút ngắn thời gian điều trị. Phương pháp này thu thập noãn chưa trưởng thành từ các nang nhỏ trong buồng trứng

và nuôi cấy trong môi trường phòng thí nghiệm thích hợp để đạt trưởng thành, trước khi thụ tinh tạo phôi và chuyển phôi giống như quy trình IVF truyền thống. Tuy IVM mang lại nhiều ưu điểm, hiện nay các quy trình vẫn còn phụ thuộc nhiều vào thao tác thủ công và đánh giá chủ quan, đồng thời chưa thể tái tạo đầy đủ vi môi trường sinh lý động của buồng trứng, làm hạn chế hiệu quả nuôi cấy và chất lượng noãn. Điều này đặt ra nhu cầu phát triển các hệ thống nuôi cấy gắn với điều kiện sinh lý thực tế và đánh giá, thao tác noãn tự động, chuẩn hóa.

1.2. Công nghệ vi lưu cho nghiên cứu hệ sinh sản nữ

1.2.1. Định nghĩa và nguyên lý hoạt động

Công nghệ vi lưu nghiên cứu và ứng dụng các thiết bị vi mô để kiểm soát và thao tác dòng chất lỏng cấp độ micromet. Nhờ khả năng điều khiển chính xác các thông số dòng chảy, áp suất và môi trường vi mô, công nghệ này cho phép mô phỏng vi môi trường sinh lý, nuôi cấy tế bào chính xác và thực hiện các đánh giá khách quan ở quy mô đơn tế bào, mở rộng ứng dụng trong nghiên cứu sinh học và kỹ thuật hỗ trợ sinh sản.

1.2.2. Ứng dụng công nghệ vi lưu trong nghiên cứu hệ sinh sản nữ

Công nghệ organ-on-chip (OoC) được phát triển nhằm mô phỏng các chức năng và tương tác sinh học của các cơ quan trong cơ thể, bao gồm cả hệ sinh sản nữ. Các hệ thống OoC cho phép nuôi cấy đồng thời nhiều loại tế bào, tái tạo tương tác nội tiết và tín hiệu giữa các tế bào, từ đó giúp nghiên cứu cơ chế sinh lý và phát triển phôi bên ngoài cơ thể một cách chính xác hơn. Ngoài ra, các nền tảng này còn hỗ trợ mô phỏng tác động của hormone, trao đổi chất và các yếu tố vật lý, tạo điều kiện cho đánh giá khách quan về trưởng thành noãn, phát triển phôi, và có thể ứng dụng trong sàng lọc thuốc cũng như các nghiên

cứu về sinh sản. Ngoài các hệ thống OoC, các hệ thống vi lưu còn được ứng dụng để thực hiện thao tác, nuôi cấy, thụ tinh trên chip và đánh giá sự phát triển của noãn, phôi. Bên cạnh đó, công nghệ vi lưu cũng tạo ra các mô hình vi môi trường sinh lý cho sàng lọc thuốc và đánh giá độc tính, giúp thử nghiệm hiệu quả và an toàn của các hợp chất với số lượng mẫu tối thiểu, rút ngắn thời gian nghiên cứu và giảm chi phí trong nghiên cứu tiền lâm sàng.

1.2.3. Chế tạo chip vi lưu

Chip vi lưu thường được chế tạo từ PDMS, một polymer silicone ổn định và linh hoạt, bằng phương pháp quang khắc. Quy trình này sử dụng mặt nạ quang học và ánh sáng cực tím để tạo các họa tiết chính xác trên bề mặt chip, hình thành các kênh và buồng vi lưu phục vụ nuôi cấy, xử lý và theo dõi tế bào ở cấp độ vi mô.

1.3. Các công nghệ y sinh hiện đại tích hợp chip vi lưu

1.3.1. Điện di điện môi

DEP là hiện tượng các hạt trung hòa điện nhưng có khả năng phân cực di chuyển trong trường điện không đồng nhất, cho phép thao tác và phân loại tế bào dựa trên sự khác biệt về tính chất điện môi. Trong các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản, DEP có thể được tích hợp vào hệ vi lưu để lựa chọn noãn, phân loại tinh trùng và đánh giá phôi theo hướng khách quan, không xâm lấn và có khả năng tự động hóa.

1.3.2. Kỹ thuật time-lapse và trí tuệ nhân tạo

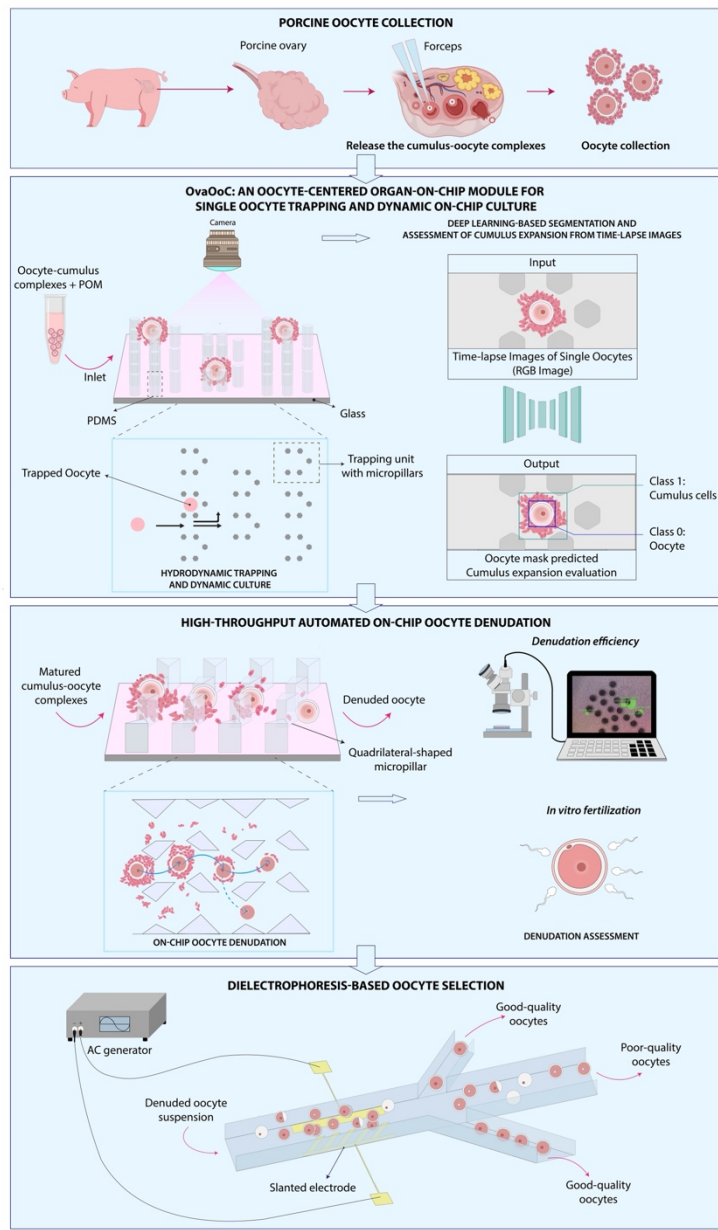
Kỹ thuật ghi hình time-lapse kết hợp với trí tuệ nhân tạo (AI) cho phép theo dõi liên tục quá trình trưởng thành của noãn và phát triển phôi, đồng thời tự động phân tích, đánh giá chất lượng một cách khách quan, hỗ trợ tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy, lựa chọn tế bào sinh sản tiềm năng và giảm gánh nặng công việc cho bác sĩ cũng như chuyên viên phôi học trong các quy trình ART.

1.4. Hệ thống đề xuất

Nghiên cứu này phát triển một nền tảng vi lưu tích hợp nhằm nâng cao hiệu quả quy trình IVM (Hình 1.8). Khối OvaOoC cho phép nuôi cấy đồng thời noãn và tế bào hạt trong môi trường vi mô kiểm soát, hỗ trợ trao đổi chất, loại bỏ chất thải, từ đó nâng cao hiệu quả nuôi cấy noãn. Hệ thống tích hợp công nghệ time-lapse và AI cho theo dõi trực tiếp các đặc tính hình thái, sinh học của từng noãn trong quá trình phát triển. Sau khi trưởng thành, tế bào hạt được loại bỏ khỏi phức hợp noãn-tế bào hạt (COC) trên chip nhằm phục vụ các quy trình thụ tinh tiếp theo. Kỹ thuật DEP được tích hợp trên chip vi lưu giúp lựa chọn noãn chất lượng tốt dựa trên đặc tính điện sinh học, cung cấp phương pháp khách quan, chuẩn hóa và có khả năng tự động hóa cho các ứng dụng thụ tinh và ART.

Kết luận chương

Chương 1 đã trình bày tổng quan về các kỹ thuật ART, với trọng tâm là IVM, bao gồm các ưu điểm, hạn chế hiện tại và những khoảng trống nghiên cứu còn tồn tại. Dựa trên các nền tảng khoa học và công nghệ này, luận án đề xuất một nền tảng vi lưu tích hợp nhằm nâng cao hiệu quả và chuẩn hoá các bước nuôi cấy, theo dõi, xử lý và lựa chọn noãn, hướng tới phát triển các hệ thống ART thế hệ mới.



Hình 1.8. Sơ đồ hệ thống vi lưu đề xuất.

CHƯƠNG 2. CƠ SỞ LÝ THUYẾT VÀ MÔ PHỎNG

2.1. Cơ sở lý thuyết và mô phỏng số

2.1.1. Cơ học chất lưu

Phương trình Navier–Stokes mô tả sự bảo toàn động lượng trong chất lỏng, cân bằng giữa các lực quán tính, gradient áp suất và lực nhớt, đồng thời được kết hợp với phương trình liên tục để đảm bảo tính toán chính xác sự biến đổi của chất lưu theo thời gian. Trong các kênh vi lưu với Reynolds thấp, lực nhớt chiếm ưu thế, dẫn đến dòng chảy tầng (laminar flow) ổn định.

Kỹ thuật bẫy đơn tế bào là phương pháp cơ bản trong sinh học tế bào và vi lưu, cho phép cố định, cô lập và thao tác chính xác từng tế bào trong các môi trường vi mô kiểm soát. Trong đó, bẫy thủy động học sử dụng dòng chảy và các cấu trúc vi mô đặc biệt để tạo lực giữ tế bào tại các vị trí định sẵn, giúp bảo toàn tính nguyên vẹn và khả năng sống của tế bào mà không cần gắn nhãn hay sử dụng trường bên ngoài.

2.1.2. Tương tác dòng chảy – tế bào

Trong hệ vi lưu, tương tác giữa dòng chảy và tế bào ảnh hưởng trực tiếp đến chuyển động, định vị và đáp ứng sinh học của tế bào; do đó, mô phỏng FEM kết hợp tương tác chất lỏng – vật rắn (FSI) giúp dự đoán hành vi tế bào và tối ưu thiết kế vi kênh cho các ứng dụng sinh học, y sinh.

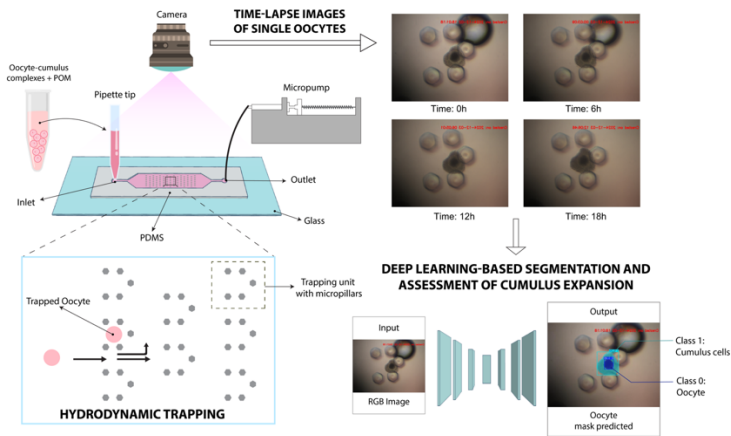
2.1.3. Điện di điện môi cho thao tác tế bào

DEP là hiện tượng các hạt có khả năng phân cực di chuyển trong trường điện không đồng nhất do khác biệt về tính chất điện môi với môi trường xung quanh. Trong thao tác tế bào, DEP cho phép cố định, di chuyển và phân loại noãn hoặc tinh trùng một cách không xâm lấn; tùy đặc tính điện của tế bào, lực DEP có thể hút tế bào về vùng điện trường mạnh (pDEP) hoặc đẩy tế bào ra khỏi vùng này (nDEP).

2.2. Thiết kế hệ thống

2.2.1. Trưởng thành noãn trên chip

Khối OvaOoC được thiết kế để cố định từng noãn, thực hiện nuôi cấy đồng thời noãn với tế bào hạt (Hình 2.2). Thiết kế kênh vi lưu với mảng vi cột hình lục giác tối ưu hóa tiếp xúc giữa noãn và môi trường nuôi cấy, đồng thời kết hợp phân tích hình ảnh thời gian thực và học máy, cho phép đánh giá tự động, khách quan sự mở rộng tế bào hạt và các thay đổi hình thái của noãn trong quá trình trưởng thành.



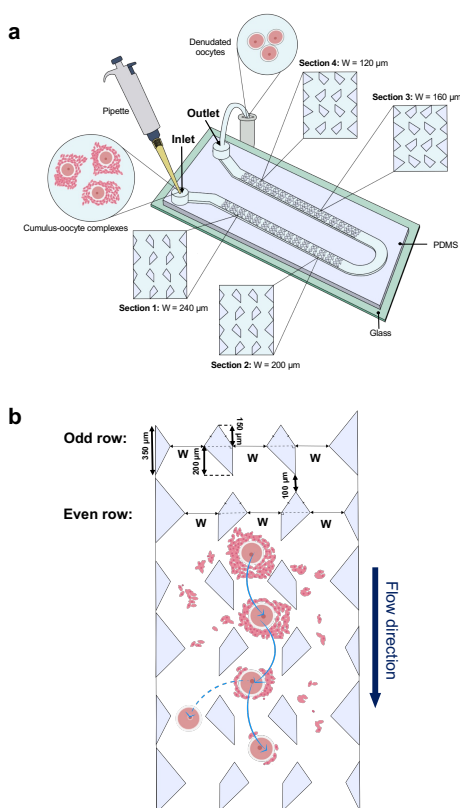
Hình 2.2. Sơ đồ hệ thống OvaOoC.

2.2.2. Đánh giá sự lan rộng của tế bào hạt sử dụng học sâu

Trong nghiên cứu này, học sâu được áp dụng để tự động phân đoạn hình ảnh noãn và tế bào hạt và đánh giá diện tích tế bào hạt theo thời gian. Hệ thống sử dụng mô hình YOLOv8-nano với khả năng phân đoạn chi tiết và xử lý nhanh, giúp theo dõi tiến trình trưởng thành của từng noãn trực tiếp trên chip một cách hiệu quả.

2.2.3. Tách noãn trên chip

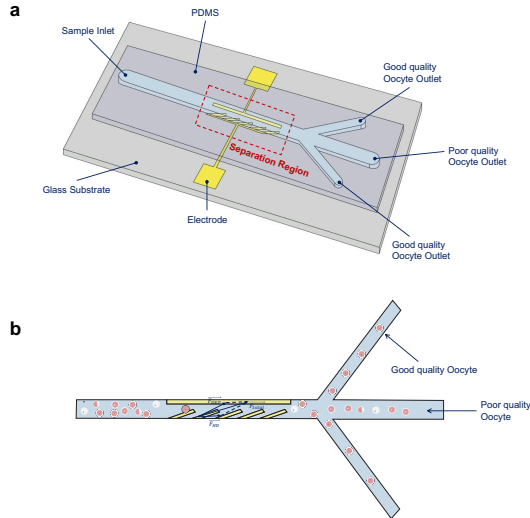
Chip vi lưu được thiết kế để tách tế bào hạt khỏi noãn một cách hiệu quả và tự động, kết hợp cơ chế cơ học từ các vi cột tứ giác với tiền xử lý enzyme hyaluronidase nhằm làm yếu liên kết giữa noãn và tế bào hạt (Hình 2.5). Dòng chất lỏng được kiểm soát và các cấu trúc vi mô trên chip tạo ra lực cắt thủy động học đồng thời cơ chế tiếp xúc vật lý giúp loại bỏ tế bào hạt đồng đều trên bề mặt noãn.



Hình 2.5. Thiết kế chip tách noãn.

2.2.4. Điện di điện môi cho thao tác nổi trên chip

Sau khi loại bỏ tế bào hạt, các noãn được đưa vào chip vi lưu tích hợp DEP để thao tác và phân loại tự động giữa noãn bình thường và bất thường dựa trên đặc tính điện sinh học (Hình 2.6).



Hình 2.6. Thiết kế chip vi lưu tích hợp DEP phân loại noãn.

2.3. Mô hình hóa và mô phỏng

2.3.1. Phương pháp phần tử hữu hạn (FEM)

FEM là một kỹ thuật tính toán mạnh mẽ, được sử dụng để giải các bài toán cơ học và vật lý phức tạp bằng cách chia miền vật liệu thành các phần tử nhỏ, từ đó tính toán biến dạng, ứng suất và các đặc tính cơ học hoặc tương tác dòng chất lỏng – vật rắn trong các hệ thống kỹ thuật và sinh học.

2.3.2. Môi trường mô phỏng: Phần mềm COMSOL Multiphysics

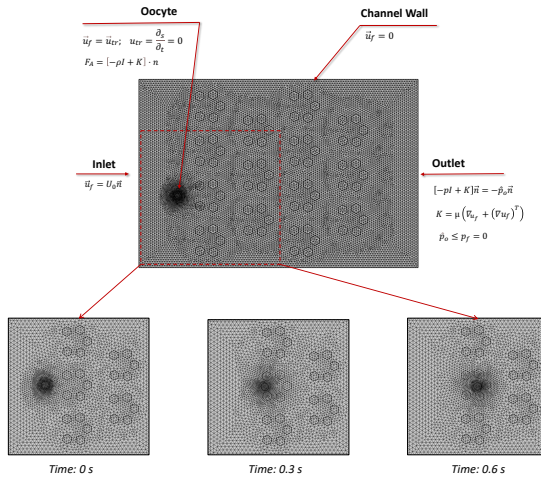
2.3.3. Mô hình mô phỏng và điều kiện biên

Mô hình mô phỏng tập trung vào vùng cố định tế bào của chip vi lưu, bao gồm cửa vào, vùng bẫy và cửa ra, nhằm nghiên cứu cơ chế thủy

động học và hiệu quả cố định đơn tế bào. Trong mô phỏng này, lưới thích ứng (moving mesh) được sử dụng để theo dõi sự biến dạng của lưới khi tế bào tiếp cận vùng bẫy (Hình 2.7), kết hợp với chiến lược tái tạo lưới thích ứng để duy trì ổn định số học và độ chính xác của kết quả.

Một mô hình tính toán 3 chiều được xây dựng để mô phỏng phân bố dòng chảy và ứng suất cắt trong vùng tách xoắn trên chip, sử dụng phương trình Stokes cho dòng chảy Reynolds thấp.

Mô hình mô phỏng của chip vi lưu tích hợp DEP được xây dựng để đánh giá đồng thời tương tác giữa lực thủy động học và DEP lên quỹ đạo chuyển động của tế bào. Mô hình bao gồm các module vật lý Dòng điện (Electric Currents), Dòng chảy tầng (Creeping Flow), và Theo dõi hạt trong dòng chảy (Particle Tracing for Fluid Flow) để tính toán chuyển động của từng xoắn dưới tác động kết hợp của lực DEP và dòng chảy. Trong mô hình, các xoắn được đại diện bằng mô hình protoplast.



Hình 2.7: Phương pháp lưới thích ứng cho mô phỏng tương tác xoắn – dòng chảy.

Kết luận chương

Chương 2 đã trình bày các nền tảng lý thuyết và phương pháp mô phỏng của nền tảng vi lưu được đề xuất, bao gồm các nguyên lý dòng chảy vi lưu, cơ chế bẫy đơn tế bào, cũng như các lực ảnh hưởng đến chuyển động và thao tác nano. Ngoài ra, chương này cũng giới thiệu thiết kế chip vi lưu, các nguyên lý vận hành và mô hình mô phỏng dựa trên FEM, bao gồm các module mô phỏng, lưới tính toán, mô hình tế bào, tính chất vật liệu và điều kiện biên, làm cơ sở cho việc thực hiện thí nghiệm và đánh giá hiệu suất trong các chương tiếp theo.

CHƯƠNG 3. THIẾT LẬP THÍ NGHIỆM

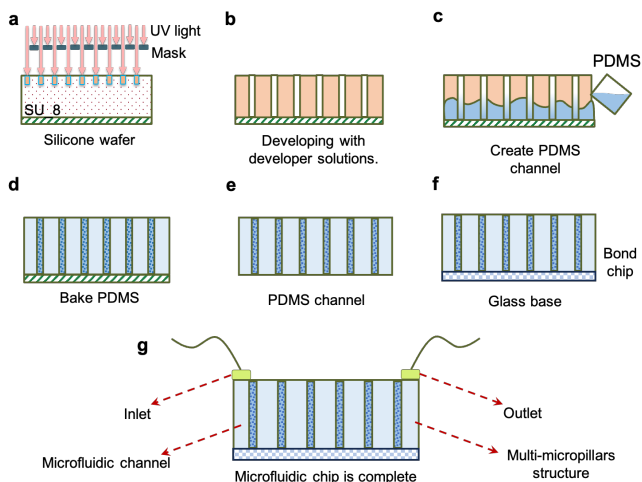
3.1. Nguyên vật liệu và quy trình chế tạo

3.1.1. Thiết bị được sử dụng trong quy trình chế tạo

- Máy quay phủ WS-650MZ-8NPPB
- Hệ thống quang khắc
- Hệ thống đo độ dày Dektak 150
- Buồng chân không
- Buồng xử lý mẫu
- Thiết bị gia nhiệt

3.1.2. Quy trình chế tạo kênh PDMS

Quy trình chế tạo chip vi lưu được thực hiện dựa trên kỹ thuật quang khắc SU-8 kết hợp với đúc khuôn PDMS (Hình 3.2). Trước hết, phiến silic được cắt theo kích thước phù hợp, làm sạch, sấy khô, sau đó phủ lớp cảm quang SU-8 bằng phương pháp quay phủ để tạo chiều dày



Hình 3.2: Các bước chế tạo chip vi lưu phục vụ quy trình IVM.

mong muốn cho cấu trúc vi kênh. Tiếp theo, mẫu được sấy trước, chiếu sáng qua mặt nạ quang học, sấy sau chiếu sáng và hiện hình để loại bỏ phần SU-8 không mong muốn, tạo thành khuôn vi kênh trên nền silic (Hình 3.1). Sau khi khuôn được ổn định bằng bước sấy cứng, hỗn hợp PDMS được đổ lên khuôn, khử bọt trong buồng chân không và gia nhiệt để đóng rắn, tạo ra lớp PDMS mang cấu trúc vi kênh. Cuối cùng, lớp PDMS được tách khỏi khuôn, tạo các đầu vào/ra, xử lý bề mặt



Hình 3.1: Khuôn vi kênh trên nền silic.

bằng plasma oxy và căn chỉnh chính xác với đế thủy tinh chứa vi điện cực trước khi gắn kết, hoàn thiện chip vi lưu phục vụ các thí nghiệm thao tác và xử lý noãn.

3.2. Quy trình chuẩn bị mẫu

3.2.1. Trưởng thành noãn trong phòng thí nghiệm

Quy trình IVM trên noãn lợn được thực hiện bằng cách thu nhận buồng trứng, chọc hút dịch nang để lấy các phức hợp COC đạt tiêu chuẩn hình thái, sau đó chuyển vào môi trường trưởng thành đã cân bằng và nuôi cấy trong tủ ẩm ở 38°C, 6% CO₂ và độ ẩm $\geq 95\%$ trong tổng thời gian 48 giờ, với bước thay môi trường sau 24 giờ. Sau nuôi cấy, noãn được đánh giá dưới kính hiển vi dựa trên sự xuất hiện của thể cực thứ nhất (PB1).

3.2.2. Tách noãn

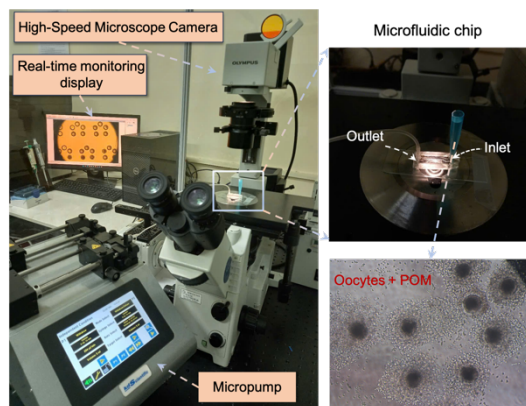
Quy trình tách tế bào hạt khỏi noãn được thực hiện trên các phức hợp COC sau 48 giờ nuôi cấy, trong đó phương pháp tách trên chip vi lưu đề xuất chỉ sử dụng 0,01% hyaluronidase và tách dưới dòng chảy liên tục trong 1 phút 30 giây, so sánh với phương pháp thủ công truyền thống dùng 0,1% hyaluronidase kết hợp hút nhả bằng pipette.

3.2.3. Thụ tinh trong ống nghiệm

Quy trình IVF sau tách noãn được thực hiện bằng cách chuyển các noãn trưởng thành đã loại bỏ tế bào hạt vào các giọt môi trường thụ tinh chuyên biệt cho lợn, sau đó thụ tinh với tinh trùng đông lạnh đã rã đông. Các hợp tử được nuôi cấy trong 7 ngày để đánh giá năng lực phát triển thông qua tỷ lệ phân cắt và hình thành phôi nang.

3.3. Thiết lập thí nghiệm

Hình 3.6 minh họa thiết lập thí nghiệm cấy đơn noãn trên chip vi lưu, bao gồm hệ bơm điều khiển dòng chảy, chip vi lưu, môi trường nuôi cấy được duy trì ổn định và hệ quan sát bằng kính hiển vi kết hợp



Hình 3.6: Thiết lập thí nghiệm bẫy đơn tế bào noãn.

camera để theo dõi quá trình định vị noãn trong vi kênh. Thí nghiệm nuôi cấy động được thực hiện sau khi các phức hợp COC được cố định trên chip vi lưu, trong đó môi trường nuôi cấy được cấp liên tục với lưu lượng 20 nL/phút trong 48 giờ nhằm tăng cường trao đổi chất, hỗ trợ loại bỏ sản phẩm chuyển hóa và duy trì vi môi trường ổn định, trong khi các điều kiện như nhiệt độ, pH và nồng độ CO₂ được kiểm soát để phù hợp với quá trình trưởng thành của noãn. Trong thí nghiệm tách noãn, phức hợp COC được đưa vào thiết bị trong điều kiện vô trùng, di chuyển qua vùng vi cột để loại bỏ tế bào hạt dưới tác động cơ học của dòng chảy, sau đó noãn được thu nhận và quan sát bằng kính hiển vi để đánh giá hiệu quả tách. Trong thí nghiệm thao tác noãn bằng DEP, tín hiệu điện xoay chiều được cấp vào hệ vi điện cực, đồng thời kết hợp với bơm tiêm, kính hiển vi quang học và camera tốc độ cao nhằm điều khiển dòng chảy và quan sát trực tiếp đáp ứng của noãn dưới tác dụng của lực DEP.

Kết luận chương

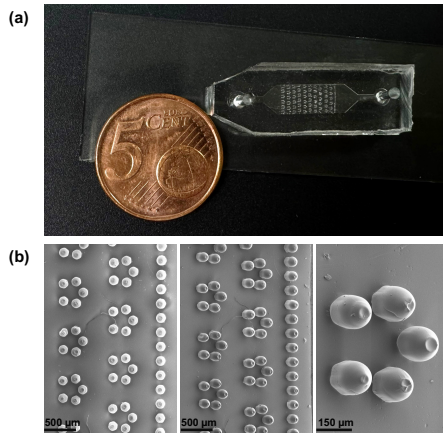
Tóm lại, chương này đã trình bày các vật liệu, quy trình chế tạo chip vi lưu, phương pháp chuẩn bị và nuôi cấy noãn lợn, cùng các thiết lập

thí nghiệm cho cấy đơn noãn, nuôi cấy động, tách tế bào hạt trên chip và thao tác bằng DEP, qua đó tạo cơ sở thực nghiệm cho việc đánh giá hiệu năng hệ thống và phân tích kết quả trong chương tiếp theo.

CHƯƠNG 4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1. Hệ thống sau khi chế tạo

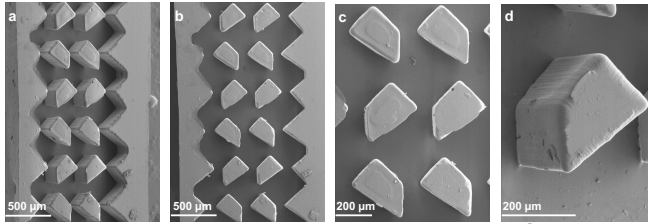
4.1.1. Kết quả chế tạo chip vi lưu ứng dụng cho cấy và nuôi cấy đơn tế bào noãn



Hình 4.1: Chip vi lưu nuôi cấy noãn sau khi chế tạo.

Hình 4.1 cho thấy chip vi lưu đã được chế tạo thành công bằng kỹ thuật quang khắc mềm, với cấu trúc PDMS gắn trên đế thủy tinh nhỏ gọn, hệ vi cột có bề mặt tương đối nhẵn và phân bố đồng đều, cho thấy quy trình chế tạo có độ chính xác và khả năng lặp lại phù hợp cho các thí nghiệm cấy và nuôi cấy noãn trên chip.

4.1.2. Kết quả chế tạo chip vi lưu ứng dụng cho tách noãn



Hình 4.2: Chip tách noãn sau khi chế tạo.

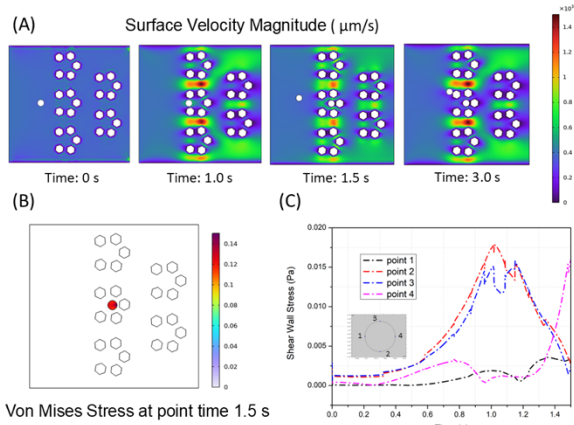
Hình 4.2 trình bày ảnh SEM của chip vi lưu sau chế tạo, cho thấy hệ vi cột có hình thái rõ ràng, bề mặt tương đối đồng đều, phù hợp với thông số thiết kế và xác nhận độ chính xác của quy trình chế tạo.

4.1.3. Kết quả chế tạo chip vi lưu chọn lọc noãn

Chip vi lưu tích hợp điện cực được chế tạo thành công trên nền ITO trong suốt, với cấu trúc điện cực gồm điện cực chữ nhật và các điện cực nghiêng có độ đồng đều và căn chỉnh tốt, tạo ra các vùng gradient điện trường mạnh tại rìa điện cực phục vụ thao tác và phân tách noãn dựa trên đặc tính điện môi.

4.2. Kết quả mô phỏng

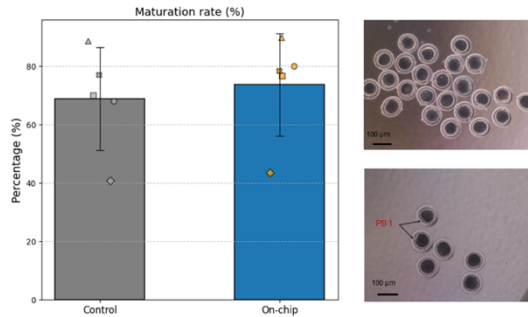
Kết quả mô phỏng trong Hình 4.4 cho thấy trường dòng chảy hình thành gradient vận tốc thuận lợi cho quá trình bẫy noãn, trong khi ứng suất cắt cực đại trên bề mặt noãn chỉ khoảng 0,018 Pa, thấp hơn ngưỡng có thể gây ảnh hưởng bất lợi đến tế bào, duy trì điều kiện cơ học an toàn cho quá trình nuôi cấy. Kết quả mô phỏng chip tách noãn cho thấy ứng suất cắt tập trung chủ yếu tại các khe hẹp giữa các vi cột và tăng dần theo chiều dài kênh, với giá trị cực đại khoảng 5,31–23,09 Pa khi lưu lượng tăng từ 0,25 đến 1,0 mL/phút, thấp hơn đáng kể so với các phương pháp tách noãn trước đây, qua đó cho thấy thiết kế đề xuất tạo được môi trường thủy động học êm dịu hơn nhưng vẫn đủ lực cơ học để hỗ trợ loại bỏ tế bào hạt hiệu quả.



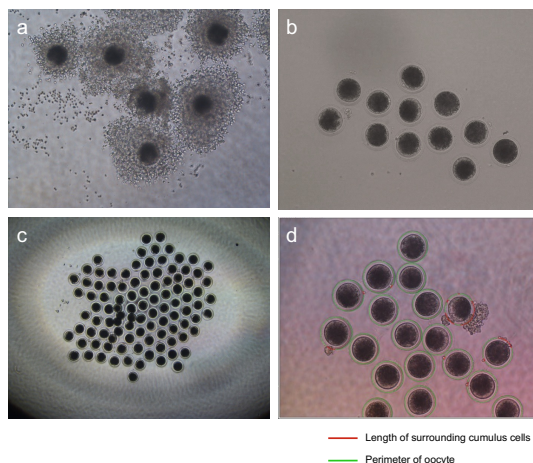
Hình 4.4: Kết quả mô phỏng chip chảy và nuôi đơn tế bào noãn.

Kết quả mô phỏng chip phân loại noãn bằng DEP cho thấy khi chưa áp dụng điện trường, các noãn di chuyển theo dòng chảy và không được tách riêng. Dưới điều kiện 2,5 V tại tần số 1 MHz và vận tốc dòng 230 $\mu\text{m/s}$, sự khác biệt về đặc tính điện môi tạo ra các đáp ứng DEP khác nhau, giúp thu hồi khoảng 93% noãn bất thường ở lõi ra trung tâm và 87% noãn bình thường ở các lõi ra bên, qua đó chứng minh tính khả thi của thiết kế trong phân loại noãn chọn lọc trên nền tảng vi lưu.

4.3. Kết quả thực nghiệm



Hình 4.11: Kết quả trưởng thành noãn trên chip.

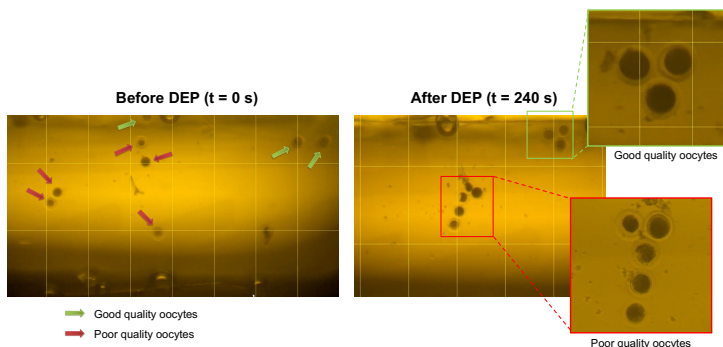


Hình 4.20: Hình thái noãn trước và sau khi tách noãn.

Kết quả thực nghiệm cho thấy chip OvaOoC có khả năng bẫy đơn noãn hiệu quả, với hiệu suất trung bình đạt $88,37 \pm 1,5\%$; hệ thống có thể hỗ trợ chọn lọc thụ động theo kích thước và duy trì vị trí noãn ổn định trong từng vùng bẫy. Như trong Hình 4.11, nuôi cấy động trên chip với lưu lượng tưới liên tục 20 nL/phút cho kết quả khả quan hơn so với nuôi cấy tĩnh, với tỷ lệ sống cao hơn, tỷ lệ thoái hóa thấp hơn và tỷ lệ thành thực tăng, cho thấy môi trường vi lưu động có thể hỗ trợ tốt hơn cho quá trình IVM.

Mô hình học sâu thể hiện hiệu quả trong việc phân đoạn noãn, tế bào hạt, ghép cụm tương ứng và đánh giá sự lan rộng của tế bào hạt theo thời gian khi nuôi cấy trên chip.

Chip tách noãn cho phép tách tế bào hạt khỏi các phức hợp COC một cách hiệu quả với thông lượng xử lý lên đến 100 noãn trong 90 giây. Kết quả cho thấy hệ thống đạt hiệu suất tách cao, đặc biệt ở điều kiện tối ưu đạt $95,94 \pm 0,94\%$ và tỷ lệ tổn thương chỉ $2,67 \pm 1,34\%$. Kết



Hình 4.25: Vị trí tế bào trước và sau khi chịu ảnh hưởng của lực DEP.

quả thụ tinh cũng cho thấy tỷ lệ phát triển thành phôi của noãn tách trên hệ thống đề xuất và phương pháp thủ công là tương đương nhau.

Kết quả thực nghiệm DEP cho thấy dưới điện áp 20 Vpp ở tần số 1 MHz, các noãn chất lượng tốt thể hiện đáp ứng pDEP, trong khi các noãn bất thường biểu hiện nDEP hoặc đáp ứng DEP không đáng kể, phù hợp với dự đoán lý thuyết và mô phỏng (Hình 4.25).

Kết luận chương

Chương 4 đã trình bày các kết quả chế tạo, mô phỏng và thực nghiệm của nền tảng vi lưu đề xuất, qua đó chứng minh tính khả thi của hệ thống, đồng thời cho thấy tiềm năng phát triển các quy trình hỗ trợ sinh sản tích hợp, tự động hóa và chuẩn hóa hơn trong tương lai.

KẾT LUẬN

Luận án đã phát triển một nền tảng vi lưu tích hợp nhằm tăng cường hiệu quả quy trình IVM. Các kết quả mô phỏng và thực nghiệm cho thấy hệ thống có khả năng cố định noãn ổn định, nuôi cấy trong vi môi trường được kiểm soát, tái tạo gần hơn vi môi trường sinh lý trong cơ thể, đánh giá noãn tự động bằng học sâu, tách tế bào hạt với hiệu suất

cao và lựa chọn noãn không xâm lấn bằng DEP. Trong tương lai, nền tảng này có thể tiếp tục được tối ưu để tăng cường tính mô phỏng sinh lý, tích hợp thêm các chức năng đánh giá thông minh và mở rộng sang các ứng dụng như lựa chọn tinh trùng, thụ tinh trên chip và nuôi cấy phôi trong các hệ thống ART thế hệ mới.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Thu Hang Nguyen, Ngoc Anh Thi Nguyen, Tung Thanh Le, Hanh Van Nguyen, Hang Thu Bui, Hoang Anh Phan, Tung Thanh Bui, Trinh Chu Duc, and Loc Quang Do, “FEMI: Deep learning-assisted analysis of single-oocyte trapping and maturation for enhanced on-chip IVM”, (2026), Biomicrofluidics 1 May 2026; 20(3): 034102. <https://doi.org/10.1063/5.0328820>.

2. Thu Hang Nguyen, Hung Anh Nguyen, Y-Van Tran Thi, Hoang Trung Nguyen, Amber Cao, Quang Loc Do, Thanh Tung Bui, Duc Trinh Chu, Hung Cao, “Emerging Bioengineering Technologies in Female Reproduction: Preclinical Advances, Translational Challenges, and Future Outlook”, (2026), Biotechnology Journal 21, no. 7 (2026): e70274. <https://doi.org/10.1002/biot.70274>.

3. Thu Hang Nguyen, Hoang Trung Nguyen, Ngoc Anh Nguyen Thi, Hoang Anh Phan, Thu Hang Bui, Thien Duy Nguyen, Linh Nguyen Thi, Nam Anh Ngo, Tung Thanh Bui, Trinh Chu Duc and Loc Do Quang, “DENO: A High-throughput Microfluidic Platform for On-chip Oocyte Denudation”, Reproductive BioMedicine Online (In revision).

4. Thu Hang Nguyen, Hoang Trung Nguyen, Nam Anh Ngo, Mai Chi Nguyen, Hang Bui Thu, Jens Ducrée, Trinh Chu Duc, Thanh Tung

Bui & Loc Do Quang, “Numerical study on a facing electrode configuration dielectrophoresis microfluidic system for efficient biological cell separation”. *Sci Rep* 14, 27627 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-78722-7>.

5. Thu Hang Nguyen, Mai Chi Nguyen, Hoang Trung Nguyen, Y Van Tran Thi, Ngoc Trung Vu, Hang Bui Thu, Trinh Chu Duc, Tung Thanh Bui, Chun-Ping Jen & Loc Do Quang, “Numerical Analysis of Dielectrophoresis-Based Microfluidic Chip with a Facing-Electrode Design for Cell Separation”, *J. Biosyst. Eng.* 49, 29–40 (2024). <https://doi.org/10.1007/s42853-024-00211-6>.

6. Thu Hang Nguyen, Ngoc Anh Nguyen Thi, Hang Bui Thu, Tung Thanh Bui, Trinh Chu Duc & Loc Do Quang, “Design and proof-of-concept of a micropillar-based microfluidic chip for trapping and culture of single cells”, *Microfluid Nanofluid* 28, 35 (2024). <https://doi.org/10.1007/s10404-024-02734-y>.

7. Thu Hang Nguyen, Hung Anh Nguyen, Y-Van Tran Thi, Donna Hoang Tran, Hung Cao, Trinh Chu Duc, Tung Thanh Bui, Loc Do Quang, “Concepts, electrode configuration, characterization, and data analytics of electric and electrochemical microfluidic platforms: a review”, *Analyst* 148, 1912-1929 (2023). <https://doi.org/10.1039/D2AN02027K>.

8. Hang Nguyen Thu, Anh Nguyen Thi Ngoc, Trung Nguyen Hoang, Junhan Xiao, Tung Le Thanh, Hang Nguyen Thi, Hanh Nguyen Van, Hoang Anh Phan, Thien Nguyen Duy, Tung Thanh Bui, William C Tang, Hung Cao, Trinh Chu Duc, Loc Do Quang, “A deep-learning-based approach for in vitro maturation monitoring utilizing hexagonal micropillar trap microfluidic platform”, 23rd International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers),

Orlando, FL, USA, 2025, pp. 1279-1282, (2025), doi: 10.1109/Transducers61432.2025.11111665.

9. Hang Nguyen Thu, Trung Nguyen Hoang, Anh Nguyen Thi Ngoc, Mobina Malekifar, Tung Le Thanh, Mai Anh Tran, Hanh Nguyen Van, Ha Tran Thi Thuy, Tung Thanh Bui, Hoang Anh Phan, Hung Cao, Trinh Chu Duc, and Loc Do Quang, "Experimental evaluation of multi-quadrilateral-pillar array microfluidic platform for oocyte denudation utilizing a deep-learning approach", 23rd International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers), Orlando, FL, USA, 2025, pp. 1260-1263, (2025), doi: 10.1109/Transducers61432.2025.11111282.

10. Thu Hang Nguyen, Hoang Trung Nguyen, Mai Chi Nguyen, Loc Do Quang, Jens Ducr  e, Trinh Chu Duc, Thanh Tung Bui, "Circulating Tumor Cell (CTC) Separation from Blood Constituents Using A Dielectrophoresis-Based Microdevice," Tenth International Conference on Communications and Electronics (ICCE), Danang, Vietnam, 2024, pp. 167-171 (2024), doi: 10.1109/ICCE62051.2024.10634638.

11. Thu Hang Nguyen, Ngoc Anh Nguyen Thi, Nam Anh Ngo, Hoang Trung Nguyen, Linh Nguyen Thi, Quang Loc Do, Jens Ducr  e, Duc Trinh Chu, Thanh Tung Bui, "Development of a Micropillar-Based Concept for Hydrodynamic Trapping and Long-Term Culture of Single Oocytes". In: Vo, V.T., Nguyen, TH., Vong, B.L., Pham, T.T.H., Doan, N.H. (eds) 10th International Conference on the Development of Biomedical Engineering in Vietnam. BME. IFMBE Proceedings, vol 122. Springer, Cham. (2024), https://doi.org/10.1007/978-3-031-90194-2_58.