

A NEW CARBON NANOPARTICLE-POLYMER COMPOSITE FOR CELL
IMPRINT LITHOGRAPHY

VIGNESWARAN NARAYANAMURTHY

Thesis submitted in fulfillment of the requirements
for the award of the degree of
Doctor of Philosophy

Faculty of Electrical & Electronics Engineering
UNIVERSITI MALAYSIA PAHANG

JUNE 2017

ABSTRAK

Ciri morfologi sel memainkan peranan yang penting dalam penyelidikan sel, penyampaian ubat, diagnostik, terapeutik dan aplikasi-aplikasi lain. Cetakan-bio adalah teknik litografi lembut digunakan untuk mendapatkan replika bentuk morfologi sel. Pendekatan proses baru pengekstrakan ciri morfologi daripada teknik replika cetakan dilaporkan. Ciri morfologi seperti bentuk dan saiz sel serta nukleus, liang dalam membran sel boleh diimejkan dan bentuk yang sama boleh dikesan. Teknik ini membantu untuk menyiasat bentuk alur, liang atau mikrovilus di permukaan sel dan membantu dalam diagnosis yang lebih baik serta analisa di peringkat sel tunggal. Walau bagaimanapun teknik penetapan konvensional, pemotongan dan observasi di bawah mikroskop imbasan elektron (sem) atau mikroskop transmisi elektron (tem) memberikan pandangan lebih terperinci kerana proses tersebut memperkenalkan variasi dalam sampel disebabkan proses yang kompleks dan rumit yang terlibat. Cetakan-bio berdasarkan mikrofluidic juga memainkan peranan yang penting dalam aplikasi penyelidikan sel tunggal. Pengendalian dan penetapan kedudukan sel-sel tunggal di peringkat skala mikro merupakan keperluan penting untuk pelbagai aplikasi termasuk genomik, proteomik, secretomik, dan analisa disintegrasi sel. Saluran mikrofluidic (saluran lurus, saluran bercabang, dan saluran ular) dengan orientasi pelbagai perigi-mikro dikesan kebolehannya dalam memerangkap sel tunggal. Biochip berdasarkan mikrofluidic mampu memerangkap sel dalam keadaan menegak dengan susunan perigi-mikro heksagon. Perigi-mikro yang berdiameter 35 mikron adalah saiz yang mencukupi untuk membenarkan sel ditangkap melekat pada permukaan untuk kajian jangka masa pendek. Aliran proses untuk fabrikasi biochip diperjelaskan. Untuk penangkap sel tunggal (PST) keupayaan biochip mikrofluidic didapati bertambah baik dari saluran yang lurus, ke saluran bercabang, dan saluran ular. Untuk penangkap sel yang banyak (PSB) adalah dari susunan berkurangan daripada saluran yang lurus, ke saluran cawangan, dan saluran ular. Diantara tiga reka bentuk, saluran ular cetakan-bio menawarkan PST yang tinggi dengan mengurangkan PSB. Sel-sel kanser paru-paru manusia digunakan dalam uji kaji ini. Dapatan kajian menunjukkan pembangunan pendekatan karbon polimer-nanopartikel komposit untuk teknik pengimejan untuk sel-sel, yang boleh memberikan maklumat morfologi pada skala organel sel sub tunggal dalam terperinci adalah novel. Mikroskop elektron digunakan untuk imej replika. Teknik ini menangkap imej sel bersama-sama dengan sub selnya secara lengkap dan terperinci morfologi sel. Had teknik ini ialah, ia hanya menyediakan maklumat morfologi. Maka morfologi abnormal yang tidak dapat ditangkap tidak boleh dianalisa. Teknik ini didapati dapat menganalisa sel-sel tunggal untuk dikaji berdasarkan morfologi, terutama untuk aplikasi penghantaran ubat dan untuk siasatan laluan molekul. Untuk prospektif masa depan, ciri-ciri morfologi yang diperoleh melalui teknik ini juga boleh digunakan untuk melatih rangkaian neural buatan untuk membuat keputusan sepenuhnya berdasarkan teknik ini.

ABSTRACT

Morphological features of cells play a vital role in cell research, drug delivery, diagnostic, therapeutic and many other applications. Bioimprint is a soft lithography technique used to obtain the imprint replica of cell morphology. Herein report a new process approach of morphology feature extraction from the imprint replica technique. Morphological features like shape and size of cell, shape and size of nucleus, pores in the cell membrane can be imaged comparatively and the same can be detected. This technique helps to investigate the shape of grooves, pores, blebs or microvillus on the cellular surface and helps in better diagnosis and analysis at single cell level. However conventional method involving fixation, sectioning and viewing under scanning electron microscope (SEM) or transmission electron microscope (TEM) can provide cell's inside anatomy details, although the process introduces variations in samples due to complex and tedious process involved. Also microfluidics-based biochip plays a vital role in single cell research applications. Handling and positioning of single cells at the microscale level is an essential need for quite various applications including genomics, proteomics, secretomics, and lysis analysis. Characterized the effect of microfluidic channel (straight channel, branched channel, and serpent channel) with a microwell array orientation for single cell trapping. Demonstrated microfluidic-based biochips capable of vertical cell trapping with a hexagonal array of microwells. Microwells were of 35 μm in diameter, a size sufficient to allow attachment of captured cells for short term study. Explained the process flow for the fabrication of the biochip. Single cell capture (SCC) capabilities of the microfluidic-biochips were found to be improving from the straight channel, branched channel, and serpent channel accordingly. Multiple cell capture (MCC) were in the order of decreasing from the straight channel, branch channel, and serpent channel. Among three designs investigated, serpent channel biochip offers high SCC with reduced MCC. Human lung cancer cells were used for characterization. The findings of this research is that developed a novel approach of carbon nanoparticle-polymer composite (CPC) for imaging technique for the cells, which can provide morphology information on single cell sub organelle scale in much detail. It is observed that 0.3 wt. % of load carbon nanoparticle (CNP) in carbon polymer mixture (CPM) were optimal for cell-imprint replica fabrication. The electrical resistance of the 3-CPC (0.3 wt. %) were reduced by 68 % when compared to N-CPC (0 wt. %). Electron microscopes were used to image the replica. Technique delivers cell image along with its complete sub cell scale level morphological details. The limitation of this technique is that, it only provides the morphology information. Thus abnormalities which do not designate on morphology cannot be diagnosed. This technique finds its application where single cells are to be analyzed and diagnosis for study based on morphology, especially for drug delivery applications and for investigations based on molecular pathways. As a future prospective, morphology features obtained through this technique can also be used to train the artificial neural network for decision making completely based on this technique.