ẢNH HƯỞNG CỦA CHÙM LASER LÊN ĐỘNG HỌC CỦA VI CẦU POLYSTYRENE GẮN VỚI PHÂN TỬ ADN TRONG KÌM QUANG HỌC

Bùi Xuân Kiên^{1*}, Hồ Quang Quý²

Tóm tắt: Phương trình Langevin tổng quát mô tả động học của vi cầu liên kết với phân tử ADN dạng chuỗi con sâu trong kìm quang học đơn chùm đã được dẫn ra và chuẩn hóa. Sử dụng phương pháp Runger-Kutta, động học của vi cầu polystyrene gắn liên kết với phân tử ADN chủng lambda đã được khảo sát. Kết quả cho thấy, thời gian chuyển động vào tâm kìm và vận tốc tức thời của vi cầu này thay đổi phụ thuộc vào cường độ đỉnh và bán kính thắt chùm của chùm laser ứng dụng trong kìm. Cuối cùng, sự ổn định của vi cầu tại vị trí ổn định cũng được khảo sát và bình luận.

Từ khóa: Kìm quang học; Động học vi hạt; Quan hệ lực đàn hồi và độ giãn.

1. MỞ ĐẦU

Phân tử ADN là đối tượng được quan tâm nghiên cứu trong sinh học. Các công trình trước đây đã tập trung khảo sát bằng thực nghiệm và xây dựng lý thuyết về mối quan hệ giữa lực căng và đô căng của phân tử ADN [1]-[8]. Quá trình nghiên cứu này được sự hỗ trợ của kìm quang học [1]-[19]. Cùng với thực nghiệm, nhiều công trình lý thuyết đã sử dung phương trình Langevin để khảo sát quá trình đông học của vi cầu dưới tác đông của kìm quang học bằng phương pháp phần tử hữu hạn [11, 18, 20, 21]. Để giải bài toán này, các nghiên cứu trước đây đã bỏ qua thành phần quán tính trong phương trình Langevin với giả thiết khối lượng của vi cầu quá nhỏ [21, 22]. Hơn thế nữa, quan hệ giữa lực đàn hồi và đô căng được làm gần đúng với giả thiết chiều dài ổn định của phân tử ADN nhỏ hơn nhiều so với chiều dài tổng của nó [2], [4], [13], do đó, không thể phản ánh đúng bản chất của phân tử ADN dạng chuỗi con sâu [23]. Để mô tả chính xác hơn về quan hệ lực đàn hồi và độ căng, hệ thức này đã được hiệu chỉnh với độ căng là x-L_b, trong đó, L_b là chiều dài ổn định [2] thay cho x [23]. Hơn thế nữa, các công trình trước đây đều khẳng định vị cầu gắn với phân tử AND được giữ ổn định tại tâm của kìm quang học. Xét theo nguyên lý cân bằng lực thì nhận định này chỉ xẩy ra đối với vi cầu tự do [21, 22], mà không thể xẩy ra đối với vi cầu bị tác động bởi các lực cạnh tranh. Với các lý do trên, điều cần thiết phải khảo sát quá trình động học của vi cầu gắn với phân tử ADN trong kìm quang học.

Nội dung của bài báo sẽ tập trung dẫn phương trình Langevin chuẩn hóa và khảo sát thời gian chuyển động của vi cầu polystyrene gắn với phân tử ADN chủng lambda từ điểm ban đầu đến tâm kìm, sự thay đổi vận tốc trong quá trình chuyển động đó và trạng thái ổn định tại tâm kìm, ảnh hưởng của chùm laser lên các đặc trưng động học đó.

2. PHƯƠNG TRÌNH LANGEVIN CHUẨN HÓA TỔNG QUÁT

Mẫu vi cầu gắn với phân tử ADN đặt trong kìm quang học đơn xung laser được thể hiện trên hình 1. Giá thiết một phân tử ADN dạng chuỗi con sâu được gắn với hai vi cầu ở hai đầu. Vi cầu ở đầu cố định được neo vào kính đặt mẫu gọi là vi cầu tĩnh, vi cầu ở đầu thứ hai được tự do, gọi là vi cầu động. Khi đặt phân tử ADN có gắn các vi cầu vào trong vết chùm laser, thì vi cầu động sẽ bị tác động bởi hai lực, lực đàn hồi của phân tử ADN kéo về vị trí ban đầu và lực quang học sẽ kéo vào tâm kìm.

Theo nguyên lý hoạt động của kìm quang học, ngoài hai lực trên, vi cầu động còn bị tác động bởi lực Brown, khi nó được nhúng trong chất lưu có chiết suất nhỏ hơn chiết suất của nó. Giả sử rằng tại thời điểm ban đầu vị trí của vi cầu động cách vi hạt tĩnh một khoảng



Hình 1. Mẫu kìm quang học cho khảo sát động học vi cầu.

bằng chiều dài cố định của phân tử ADN, tương ứng với tọa độ hướng tâm ρ_0 . Dưới tác động của quang lực gây ra bởi chùm laser có cường độ đỉnh I₀ và bán kính thắt chùm W₀, vi cầu động sẽ chuyển động về phía tâm kìm, tương ứng với tọa độ $\rho=0$. Trong thời gian chuyển động từ vi trí ρ_0 đến tâm kìm, vị trí tức thời của vi cầu động được xác định thông qua tọa độ ρ_i (hình 1). Do tác động của các lực, chuyển động của vi cầu động được mô tả theo phương trình Langevin tổng quát sau [21]:

$$m\ddot{\rho}(t) = -\gamma\dot{\rho}(t) + F_{gr,\rho}(\rho(t)) - F_{el}(\rho(t)) + \sqrt{2k_B T \gamma} W_{\rho}(t)$$
(1)

trong đó, *m* là khối lượng vi cầu; $\gamma = 6\pi\eta a$ là hệ số ma sát nhớt; η là độ nhớt của chất lưu, *a* là bán kính vi cầu, k_B là hằng số Boltzmann, *T* là nhiệt độ tuyệt đối, $W_{\rho}(t)$ là nhiễu trắng, ρ là tọa độ vị trí của vi cầu động, ba số hạng cuối bên phải phương trình tương ứng là lực quang học, lực đàn hồi và lực Brown.

Lực quang học tác động lên vi cầu động là lực gradient ngang được xác định như sau:

$$F_{gr,\rho}(\rho_i) = -2n_f \rho_i a^3 I_0 \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2}\right) \frac{1}{W_0^2} exp \left[-2 \times \left(\frac{\rho_i}{W_0}\right)^2\right]$$
(2)

trong đó, $m = n_b / n_f$ là tỉ số chiết suất, n_b , n_f tương ứng là chiết suất vi cầu và chất lưu, c là vận tốc ánh sáng, I_0 , W_0 tương ứng là cường độ đỉnh và bán kính thắt chùm của chùm laser. Chùm laser có phân bố Gauss nên cường độ tại các tọa độ ρ_i (hình 1) được xác định theo biểu thức sau:

$$I(\rho_i) = I_0 exp\left[-2 \times \left(\frac{\rho_i}{W_0}\right)^2\right]$$
(3)

Lực đàn hồi của phân tử ADN khi bị kéo căng được xác định như sau [23]:

$$F_{el}(\rho_i) = \frac{k_B T}{L_b} \left[\frac{\rho_i - \rho_0}{L} + \frac{1}{4 \left(1 - \left(\rho_i - \rho_0 \right) / L \right)^2} - \frac{1}{4} \right]$$
(4)

trong đó, L là chiều dài tổng của phân tử ADN (khi bị kéo thẳng); Lực Brown gây ra bởi xung lực của các phân tử chất lưu xung quanh vi cầu được xác định như sau:

$$F_B = \sqrt{2k_B T \gamma} W_\rho(t) \tag{5}$$

162

trong đó, $W_{\rho}(t)$ hàm mô tả nhiễu trắng với các đặc trưng sau [21]: giá trị trung bình theo thời gian $\langle W_{\rho}(t) \rangle = 0$; $\langle W_{\rho}^2(t) \rangle = 1$; Và $W_{\rho}(t_1), W_{\rho}(t_2)$ không phụ thuộc vào nhau với mọi cặp thời gian $t_1 \neq t_2$.

Để giải được phương trình (1) một cách chính xác mà không sử dụng phương pháp phần tử hữu hạn, phương trình này cần được chuẩn hóa tham số như sau:

$$\xi = \frac{x}{L}; \tau = \omega_0 t; \frac{dx}{dt} = \omega_0 L \frac{d\xi}{d\tau}; \frac{d^2 x}{dt^2} = \omega_0^2 L \frac{d^2 \xi}{d\tau^2}$$
(6)

với $\sigma_0 = 2.n_f .a^3 .I_0 \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2}\right) .\frac{1}{W_0^2}$.

Phương trình (1) sau khi chuẩn hóa có dạng sau:

$$\frac{d^2\xi}{d\tau^2} + h\frac{d\xi}{d\tau} + \mu_0 \cdot \exp\left(-2\beta^2\xi^2\right) + \xi + \frac{1}{4(1-\xi)^2} = \frac{1}{4} + D_0W_x,\tag{7}$$

trong đó:

$$h = \gamma \sqrt{\frac{L_B L}{m_b k_B T}}; \ \mu_0 = \frac{\sigma_0 L_B L}{k_B T}; \ D_0 = L_B \sqrt{\frac{2\gamma}{k_B T}}, \ \beta = \frac{L}{W_0},$$
(8)

Với điều kiện chuẩn hóa

$$\frac{k_B T}{m_b \omega_0^2 L L_B} = 1 \text{ or } \omega_0 = \sqrt{\frac{k_B T}{L m_b L_B}} .$$
(9)

Động học của vi cầu gắn với phân tử ADN sẽ được khảo sát thông qua việc giải phương trình (7) bằng phương pháp Ranger-Kutta trên phần mềm MATLAB áp dụng với các tham số thực nghiệm.

3. ĐỘNG HỌC CỦA VI CẦU POLYSTYRENE

Chúng ta khảo sát động học của một vi cầu polystyrene đóng vai trò vi cầu động có bán kính $a = 0,05 \mu m$, chiết suất $n_b = 1,57$, average density of $1,35g / cm^3$ [21]. Vi cầu này cùng với phân tử ADN được nhúng trong nước có độ nhớt $\eta = 0,001Ns / m$ và chiết suất $n_f = 1,326$ ở nhiệt độ T = 300K [22]. Kìm quang học được thiết kế bởi một chùm laser liên tục bước sóng $\lambda = 1,06 \mu m$, công suất trung bình P = 0,255mW. Chùm laser này được hội tụ bởi một thấu kính trở thành chùm Gauss có bán kính thắt chùm (bán kính vết hội tụ) $W_0 = 2 \mu m$ và công suất đỉnh tại tâm vết $I_0 = 3 \times 10^3 W / cm^2$.

Sử dụng các tham số này, chúng ta sẽ khảo sát động học của vi cầu polystyrene gắn với phân tử ADN chủng lambda có chiều dài ổn định $L_b = 89nm$ và chiều dài tổng $L = 16,24 \mu m$ [14] đặt tại vị trí ban đầu $\rho_0 = -3,5 \mu m$ về phía trái của tâm kìm (hình 1). Với các tham số trên, đặc trưng thời gian - vị trí của vi cầu polystyrene được khảo sát như trong hình 2. Chúng ta nhận thấy rằng đặc trưng này hoàn toàn phù hợp với kết quả khảo sát của Fu và cộng sự khi tác động lên vi cầu một lực F=1,2 pN [3] (ảnh nhỏ trên bên trái hình 1). Trong trường hợp này, vi cầu được kéo vào tâm kìm sau thời gian khoảng 170 µs. Khoảng thời gian này gọi là thời gian bẫy. Như trong biểu thức (2) quang lực phụ

thuộc vào cường độ đỉnh và bán kính vết chùm tia, do đó, thời gian bẫy sẽ thay đổi khi thay đổi khi sử dụng các chùm tia khác nhau.



Hình 2. Đặc trưng thời gian-vị trí của vi cầu trong trường hợp $I_0=3.10^3 W/cm^2$, $W_0=2.10^6 m$.



Trên hình 3 và 4 là các đường đặc trưng thời gian-vị trí của vi cầu khi sử dụng các chùm tia laser có cường độ đỉnh và bán kính vết khác nhau. Khi giữ nguyên thấu kính hội tụ và tăng công suất sao cho cường độ đỉnh tăng từ $I_0 = 3 \times 10^3 W / cm^2$ lên $I_0 = 5 \times 10^3 W / cm^2$ thì thời gian bẫy giảm từ 170 µs xuống còn 100 µs (hình 3). Rõ ràng rằng thời gian bẫy sẽ rút ngắn lại khi cường độ đỉnh tăng lên. Tương tự, khi giữ nguyên công suất của laser nhưng thay đổi thấu kính hội tụ sao cho bán kính vết thay đổi thì thời gian bẫy cũng thay đổi theo (hình 4). Chúng ta nhận thấy khi tăng bán kính vết chùm tia tăng từ 2 µm lên 2,5µm thì thời gian bẫy giảm rất nhanh từ 170 µm xuống còn khoảng 60 µm. Tuy nhiên, với bán kính vết lớn hơn 2,5 µm thì thời gian bẫy hầu như không thay đổi. Điều này có thể giải thích rằng, khi bán kính nhỏ hơn 2,5 µm thì vết chùm tia không phủ được vi cầu, tức là nó nằm ngoài vùng hiệu dụng nên lực quang học tác động lên vi cầu yếu, nhưng khi tăng lên đến 2,5 µm và lớn hơn thì vi cầu nằm trong vùng hiệu dụng, do đó, vi cầu được kéo vào tâm với tốc độ nhanh hơn. Từ hình 3 và hình 4, chúng ta có nhận xét dạng đường đặc trưng cũng thay đổi khi thay đổi cường độ đỉnh hoặc bán kính vết

chùm tia. Điều này cho thấy vận tốc tức thời của vi cầu thay đổi liên tục trong quá trình chuyển động vào tâm kìm. Nhận định này được khảo sát như trên hình 5 và 6.





Hình 5. Các đường đặc trưng vận tốc tức thời-vị trí của vi câu trong các trường hợp $I_0 = (3.10^3 - 5.10^3) W/cm^2, W_0 = 2.10^{-6}m.$

Hình 6. Các đường đặc trưng vận tốc tức thời-vị trí của vi cầu trong các trường hợp $I_0=3.10^3 W/cm^2$, $W_0=(2-4).10^{-6}m$.

Từ hình 5 chúng ta thấy vận tốc tức thời của vi cầu tăng từ không tại vị trí ban đầu đến giá trị cực đại rồi giảm về không tại tâm kìm. Giai đoạn ban đầu, quang lực yếu hơn lực đàn hồi, do đó, vi cầu hầu như đứng yên, nhưng khi có tác động của quang lực vi cầu chuyển động dần vào vùng quang lực tăng dần thì vận tốc của nó cũng tăng lên. Vận tốc sẽ lớn nhất khi vi cầu nằm ở vùng lân cận điểm uốn của gradient cường độ, tại đó quang lực mạnh nhất. Sau khi vượt qua vùng này quang lực giảm dẫn đến tốc độ của vi cầu cũng giảm theo. Trong trường hợp bán kính vết không đối $W_0 = 2.10^{-6}m$ thì quá trình thay đối tốc độ của vi cầu hầu như không thay đổi, chỉ giá tị của nó tăng theo cường độ đỉnh. Điều này hoàn toàn khác khi cường độ đỉnh không đổi mà thay đổi bán kính vết (hình 6). Khi mở rộng vết chùm tia thì vùng hiệu dụng của quang lực cũng tăng lên, do đó ngay tại thời điểm ban đầu, vi cầu thay đổi vận tốc rất nhanh. Tuy nhiên, do mở rộng vết mà cường độ đỉnh vẫn giữ nguyên nên gradient cường độ bị giảm theo dẫn đến quang lực cũng giảm, do đó tốc độ của vi cầu giảm.



Hình 7. Xác định điểm "ổn định".

Hình 8. Dao động của vi cầu quanh điểm "ổn định".

Trên hình 5 và 6, chúng ta thấy hầu như tốc độ của vi cầu tại tâm kìm bằng không, tuy nhiên điều này không đúng hoàn toàn. Thứ nhất, vi cầu không bao giờ chuyển động vào

tâm kìm mà dao động chung quanh vị trí, tại đó lực đàn hồi và quang lực cân bằng nhau (hình7). Vị trí này được định nghĩa là vị trí "ổn định" của vi cầu. Tuy nhiên, khi hai lực này cân bằng nhau thì lực Brown có tác động chính lên vi cầu, do đó, vi cầu sẽ dao động ngẫu nhiên chúng quanh vị trí này. Do dao động ngẫu nhiên, vi cầu chuyển động ra khỏi điểm ổn định, khi đó nó lại chịu tác động của hai lực đàn hồi và quang lực. Tác động của hai lực này làm cho vi cầu dao động mạnh hơn với xu thế quay trở lại vị trí ổn định. Do đó, vận tốc của vi hạt tại vị trí ổn định không bằng không tuyệt đối. Chúng ta có thể khẳng định điều đó khi khảo sát quá trình động học của vi cầu tại điểm ổn định này (hình 8). Rõ ràng, vi cầu dao động ngầu nhiên chung quanh vị trí "ổn định" do tác động của lực Brown.

4. KẾT LUẬN

Dựa vào nguyên lý hoạt động và cấu tạo mẫu kìm quang học đơn ứng dụng nghiên cứu độ căng của phân tử ADN, phương trình Langevin tổng quát mô tả động học của vi cầu tác động bởi đồng thời nhiều lực đã được dẫn và chuẩn hóa tham số. Ứng dụng các tham số thực nghiệm, một số đặc trưng động học của vi cầu polystyrene gắn với phân tử ADN chủng lambda đã được khảo sát. Kết quả cho thấy thời gian chuyển động vào vị trí ổn định, tốc độ tức thời của vi cầu phụ thuộc vào công suất laser (cường độ đỉnh) và thấu kính hội tụ (vết chùm tia). Hơn nữa, vi cầu không ổn định hoàn toàn khi vào tâm kìm mà tại vị trí tại đó lực đàn hồi và quang lực cân bằng nhau và dao động ngẫu nhiên xung quang vị trí đó do tác động của lực Brown. Các kết quả này là đóng góp nhỏ, định hướng cho thực nghiệm trong việc lựa chọn các tham số laser phù hợp vơi các tham số của vi cầu khi nghiên cứu độ căng của phân tử ADN dạng chuỗi con sâu.

Lời cảm ơn: Bài báo hoàn thành với sự tài trợ của Đề tài khoa học cấp cơ sở: Nghiên cứu đặc trưng động lực học của vi cầu gắn với phân tử AND trong kìm quang học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. C. Deufel, and M.D.Wang, *Detection of forces and displacements along the axial direction in an optical trap*, Biophys.J. **90**, pp.657-667 (2006).
- [2]. M. D. Wang, H. Yin, R. Landick, J. Gelles, and S. M. Block, Stretching DNA with optical tweezers, Biophysical J. 72, March 1997, 1336-1346.
- [3]. W. B. Fu, X. L. Wang, X. H. Zhang, S. Y. Ran, J. Yan and M. Li, Compaction dynamics of single DNA molecules under tension, J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, 15040-15041.
- [4]. P. Gross, N. Lauren, L. B. Oddershede, U. Bockelmann, E. J. G. Peterman and G. J.L. Wuite, *Quatifying how DNA stretches, melts and changes twist under tension*, Nature physics, 22 May 2011, Doi:10.1038/PHYS2002.
- [5]. V. S. Jadhav, D. Bruggemann, F. Wruck and M. Hegner, Single-molecule mechanics of protein-labelled DNA handles, Beilstein J. of Nanotechnology, Vol.7, 2016, 138-148.
- [6]. P. M. Bendix, L.Jauffred, K. Norregaard, and L.B. Oddershede, *Optical trapping of nanoparticles and quantum dots*, IEEE J. of selected topics in Quant. Elect. 20, 2014, 4800112.
- [7]. J. S. Huang, Y. T. Yang, Origin and future of plasmonic optical tweezers, Nanomaterials, 2015, 5, 1048-1065, doi: 10.3390/nano5021048.
- [8]. M. J. Shon and A. E. Cohen, Nano-mechanical measurements of protein-DNA

166

interactions with a silicon nitride pully, Nucleic Acids Research, 2015, doi:10.1093/nar/gkv866.

- [9]. U.F. Keyser, J. van der Does, C. Dekker, and N.H.Dekker, "Optical tweezers for force measurements on DNA in nanopores," Rev. Sci. Intrum. 77, p.105105 (2006).
- [10]. U. Deufel et al, "Direct force measurements on DNA in solid-state nanopore," Nature Phys. 2, pp.473-477 (2006).
- [11]. Y. Seol, J. li, P.C. Nelson, T.T. Perkin, and M.D. Betterton, "*Elasticity of short DNA molecules: Theory and Experiment for Contour lengths of 0.6-7μm*," Biophys. J. 93, pp. 4360-4373 (2007).
- [12]. C. Bustamante *et al, "Entropic elasticity of lambda-phage DNA,*" Science. **265**, pp. 1599-1600 (1994).
- [13]. C. Bustamante, S.B. Smith, J. Liphardt, and D. Smith, "Single-molecule studies of DNA mechanics," Current Opinion in Structural Biology, 10, 2000, 279-285.
- [14]. C. G. Bauman et al, "Stretching of single collapsed DNA molecules," Biophysical Journal, vol.78, pp. 1965-1978 (2000).
- [15]. T. Roopa, "Nanomechanics of membrane tubulation and DNA assembly," Applied Physics Letters, **82**, No.10, pp.1631-1634 (2003).
- [16]. W.J. Greenleaf, M.T. Woodside, and S.M. Block, "High-resolution, single-molecule measurements of biomolecular motion," Annu. Rev. Boiphys. Biomol. Struct. 36, pp. 171-190 (2007).
- [17]. K.C. Neuman and A. Nagy, "Single-molecule force spectroscopy: optical tweezers, magnetic tweezers and atomic force microscopy," Nat. Methods 5, pp. 491-505 (2008).
- [18]. T.T. Perkin, "Optical trap for single molecule biophysics: a primer," Laser & Photon Rev. **3**, pp. 203-220 (2009).
- [19]. G. Sharma, K. Rege, D. E. Budil, M. Yarmush, and C. Mavroidis, "Biological force measurement in a protein-based nanoactuator," IEEE trans. on Nanotech. 8, pp. 684-691 (2009).
- [20]. L.V. Chu, D. T. Thai, Q. Q. Ho, "Dynamic of Polystyrene Microsphere Lingking to DNA molecule under Optical Tweezers," J. Physical Science and Application, Vol.4, No.5 (2014) 333-338.
- [21]. Giorgio Volpe and Giovanni Volpe, "Simulation of Brownian particle in an optical trap," Am. J. Phys. 81, pp. 224-230 (2013).
- [22]. Q. Ho, M. V. Luu, Hoang Dinh Hai and Donan Zhuang, "The Simulation of the Stabilizing Process of Dielectric Nanoparticle in Optical Trap using Counterpropagating Pulsed Laser Beams," Chinese Optic Letters, Vol. 8, No. 3 / March 10, 2010, pp.332-334.
- [23]. D.T. Thai, V.L. Chu, Q.Q. Ho, "Recorrected stretch function of spring-like elastic DNA molecules," International J. of Engineering and Innovative Technology, Vol.3, 10 (2014), 1-4.
- [24]. M. Hamdi et al, "Characterization of protein based spring-like elastic joints for biorobotic applications," Proc. IEEE International Conference on Robotics and Automation, Orlando, Florida, May 2006, 1794-1799.

Tạp chí Nghiên cứu KH&CN quân sự, Số 52, 12 - 2017

ABSTRACT

SOME DYNAMICAL PROPERTIES OF POLYSTYRENE MICROSPHERE LINKING TO DNA MOLECULE UNDER SINGLE OPTICAL TWEEZERS

In this paper, the dynamical of polystyrene microsphere linking to λ -phage DNA molecules under single optical tweezers are analyzed by the full normalized Langevin equation (FNDLE) with elastic and Brownian forces. The influence of laser beam waist and laser power on the trapping time and momental velocity of polystyrene microsphere is investigated. Finally, the stability of the microsphere at stable point near tweezers center is observed and discussed.

Keywords: Optical tweezers; Dynamic of DNA; Elastic-extension relation.

Nhận bài ngày 21 tháng 11 năm 2017 Hoàn thiện ngày 08 tháng 12 năm 2017 Chấp nhận đăng ngày 20 tháng 12 năm 2017

Địa chỉ: ¹ Trường ĐH Điện lực;

² Trường ĐH Công nghiệp thực phẩm HCM. *Email: kienbx.epu2011@gmail.com.