

Biočipu robota izstrāde

Atis Vilkajs, Riga Technical University, Sergejs Djacenko, SIA Biotechnomica, Janis Viba,
Riga Technical University

Kopsavilkums. - Šī darba apraksts ir saistīts ar tiešu un konkrētu mērķi: ar reālas iekārtas uzprojektēšanu un izgatavošanu, kas veiksmīgi realizētos pasaules tirgū. Ierīce ir biočipu robots. Tas ir pielietojams biomedicīnas laboratorijās smalku un sarežģītu analīžu veikšanai. Tāpēc aprakstā tiek minēts, kādas ir tā funkcijas un kas tās ir par analīzēm, ar kurām robotam būtu jātiek galā. Konstruējot iekārtu, tiek noteikti tās galvenie uzdevumi, kritēriji un parametri. Protams, tā ir arī pašizmaksa. Iekārta projektēta Solid Work vidē, kur stingri tiek izvērtēta materiālu izvēle un noteiktas precizitātes klases. Gala rezultātā ir izveidota ierīce ar tai noteiktajiem parametriem. Sīkāka informācija netiek izpausta uzņēmuma konfidencialitātes dēļ.

Atslēgas vārdi - robots, biočipi, izstrāde, projektēšana, tehniskais uzdevums, modelēšana

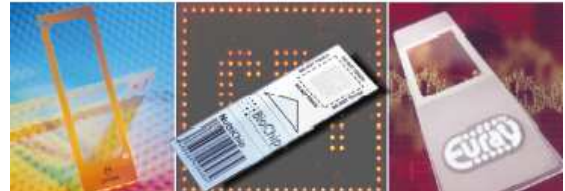
I. IEVADS

Šī darba aktualitāti nosaka tas, ka mūsdienīga laboratorija, jebkura - zinātniskā, medicīniskā vai ražošanas, pēc būtības ir augstas tehnoloģijas uzņēmums, kura rīcībā ir vesela rinda iekārtu pētījumu veikšanai. Tas saistīts ar to, ka, kā zināms, cilvēka faktors – visizplatītākais iemesls kļūmēm darba procesā, tādēļ katram pētniekam, lai kur tas strādātu, ir vēlme atteikties no roku darba metodikām, lai arī cik lētas tās nebūtu. Pat pats vienkāršākais pētījums atkarīgs no konkrētās laboratorijas apstākļiem, tādēļ viena un tā pati analīze, veikta dažādās laboratorijās var radikāli atšķirties. Pēdējās paaudzes diagnostikas aparāti ļauj pilnībā izslēgt ārējos apstākļus un cilvēka faktoru jebkuras laboratorijas darbā. Tādējādi veiktais pētījums kļūst standartizēts visās tehnoloģiskā procesa stadijās.

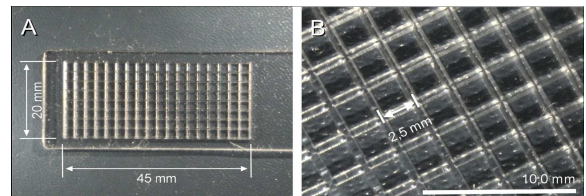
II. DNS ČIPU (MIKROBIOČIPU) VISPĀRĪGAIS RAKSTUROJUMS

DNS čipu parādīšanās 90-to gadu otrajā pusē kļuva par jaunu biotehnoloģisku revolūciju, kas pēc svarīguma stāv vienā rindā ar DNS struktūras atšifrēšanu 50-jos gados. Teorētiskais pamats bāzējas uz vienosma polinukleotīdu ķēdes komplementārās hibridizācijas principa, ko izmanto diagnostikā pēc PCR metodes.

DNS čips sastāv no plates ar izmēriem 25x75 mm (ir dažādas, piemērs parādīts 1. att.) uz kuras stingri noteiktā secībā izvietotas šūniņas, katra no tām satur vienosma polinukleotīdu ar vienu noteiktu bāzes secību. Šādu polinukleotīdu šūniņu skaits, respektīvi, dažādu nukleotīdu secību skaits, var pārsniegt 1 mlj. uz 1 cm², to garums – no 9-10 līdz 1000 nukleotīdu. Kā viens no piemēriem parādīts 2. att.

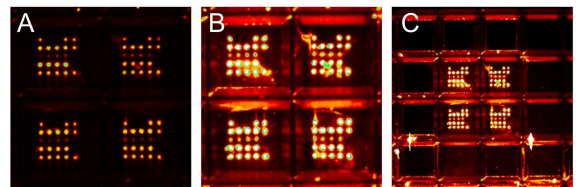


1. att. Biočipi



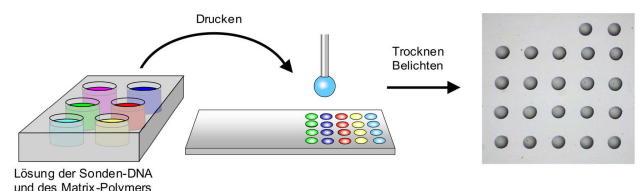
2. att. Čipa stiklīšs

DNS čipu tehnoloģija balstīta uz nezināmas nukleotīda secības (pētāmais materiāls) hibridizāciju ar sakārtotām zināmā secībā pazīstamām DNS (iezīmētie nukleotīdi), imobilizētām uz stikla vai silīcija virsmas (3. att.).



3. att. Biočipi

Pēc hibridizācijas ar speciālu ierīču palīdzību (visizplatītākā ir detektēšana ar fluorescences zondi, iepriekš iezīmētu ar fluoroformu un hibridizētu ar imobilizētu provi) veic iezīmēto nukleotīdu noteikšanu, uzskaitot kā tos oligonukleotīdus vai DNS fragmentus, ar kuriem hibridizējies iezīmētais DNS, tā arī signāla intensitāti, kas raksturo iezīmēto molekulu skaitu dotajā čipa šūniņā.

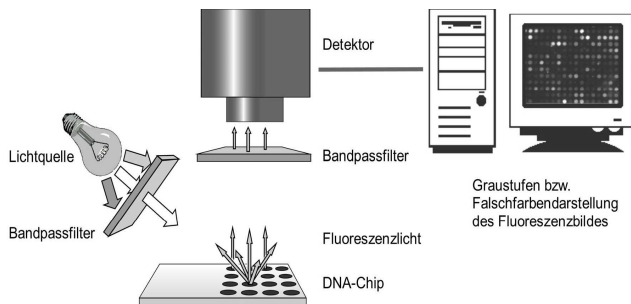


4. att. Čipu iezīmēšana

III. DNS ČĪPU RAŽOŠANA

DNS čipus robots var iespiest uz stikla, neilona, polipropilēna un silīcija virsmas. Priekšrocības ir stikla un silīcija pamatnēm, jo paša stikla fluorescences aktivitāte ir ļoti zema, tās iztur augstas temperatūras, inkubāciju šķīdumos ar lielu jonu spēku un nav porainas (tas paātrina proves asociāciju ar mērķi).

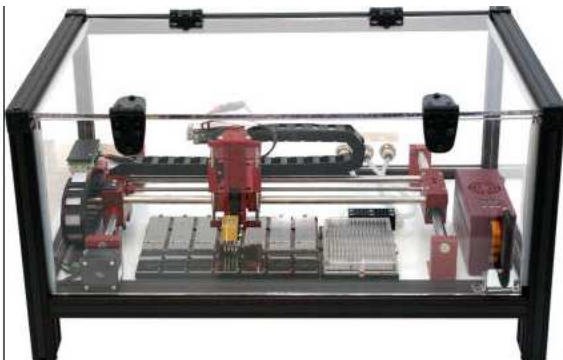
Pēc pētāmā objekta hibridizācijas uz stikla ar iezīmēto zondi, tiek veikta hibridizācijas signāla detekcija. Šim nolūkam pielieto fluorescences rīderi, piemērs 5. att.



5. att. Čipu nolasīšana

Bez fluorescences analīzes pēdējā laikā tiek veikti mēģinājumi detekcijai izmantot masspektromiju, gemituminiscenci, optisko šķiedru tehnoloģiju, diožu detektorus, elektrisko lādiņu detekciju. [7]

Pateicoties DNS čipiem, pirmoreiz parādījusies iespēja veikt mutāciju analīzi genoma visos gēnos vienlaicīgi, jo visu iespējamo mutāciju analīzei visos cilvēka gēnos ir nepieciešams DNS čips ar 100-200 mlj. šūniņu, kas tehniski ir iespējami.



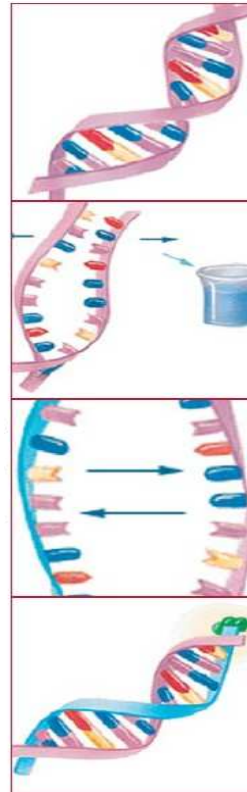
6. att. Biočipu robots

IV. ANALĪZU VEIKŠANA AR BIOČĪPU IZMANTOŠANU

DNS analīze, izmantojot biočipus, notiek pēc sekojošas shēmas, četros etapos (7. att.):

1. DNS fragmenta ķīmiskās struktūras noteikšana.
2. DNS fragmenta atdalīšana, kas tiek ievietots šķīdrajā substrātā, zināmajā segmentā.

3. Nezināmā materiāla izpēte. Pētāmās DNS paraugs (pa kreisi) ienes zināmajā DNS fragmenta segmentā. Pie struktūru sakritības notiek hibridizācija.
4. Rezultāta identifikācija. Notiek ar dažādu fotojutīgu ķīmisku vielu palīdzību.



7. att. DNS analīze

Pētījuma sākumā ir nepieciešams izdalīt DNS no analizējamā parauga ar jebkuru molekulārajā bioloģijā vispārpieņemtu paņēmieni.

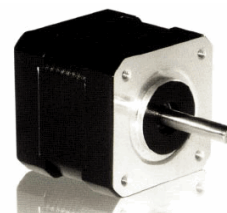
Pēc tam pētāmais DNS tiek hibridizēts ar sagatavoto biočipu. Tālāk veic iezīmētu nukleotīdu detekciju ar biočipu rīderu palīdzību, pie tam tiek uzskaitīti oligonukleotīdi vai DNS fragmenti, ar kuriem hibridizējies pētāmā DNS, un signāla intensitāte, kas atspoguļo iezīmēto molekulu skaitu dotajā čipa šūniņā. Tādējādi iespējams iegūt informāciju par pētāmās DNS secību (jo katrai pētāmās DNS noteiktai secībai atbilst zināma imobilizētas uz čipa DNS secība) un par katras pētāmās secības skaitu.

V. TEHNISKĀS PRASĪBAS IZSTRĀDĀJAMAJAM ROBOTAM BIOČĪPU RAŽOŠANAI

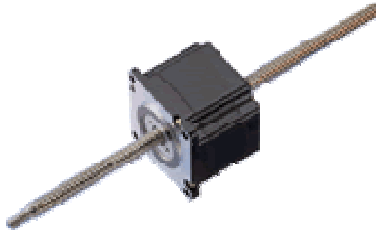
Biočipu ražošanas robota uzdevums ir, dozatora adatā uzņemot etalona oligonukleotīdu, iespiest uz stikla pamatnes ar izmēriem 25x75 mm un precizitāti +/-0,01 mm, punktu ar diametru apmēram 0,15 mm. Katrs šāds punkts ietver sevī informāciju par konkrētu DNS. Uz pamatnes atkarībā no čipa uzdevuma var tikt uzlikti simtiem tūkstošu punktu.

Sistēmas piedziņu veic trīs soļu motori. Pa X un Y asi (piemēru skatīt 8. att.), pa Z asi (piemērs 9. att.).

Lai nodrošinātu augsto precizitāti, soļu motoriem ir uzlikts tā saucamais mikrosteps (skatīt piemēru 10. att.), kas vienu soli sadala vēl uz 8 daļām (atkarība no mikrostepa). Tātad, ja motora viens apgrieziens sastāda 200 soļus, tad, pareizinot ar

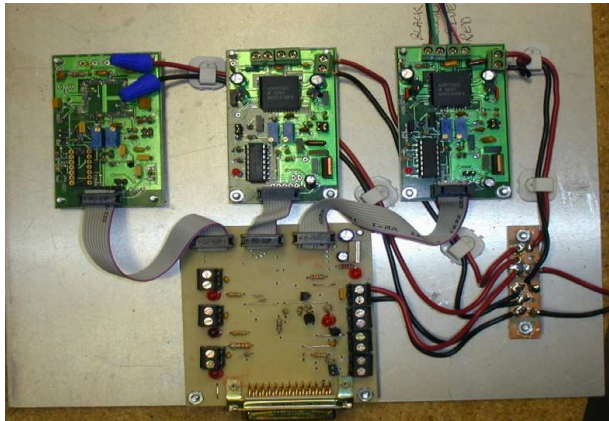


8. att. Soļu motors uz X, Y asīm



9. att. Soļu motors uz Z ass

8, iegūstam, ka viens motora apgrieziens sastāv no 1600 soļiem. Mehānisma kustība tiek nodrošināta ar 12 gājumu vītņi.



10. att. Mikrosteps

Robota vadība un kalibrēšana notiek ar datora palīdzību. Šim nolūkam darbam ar robotu ir sastādīta speciāla vadības programma.

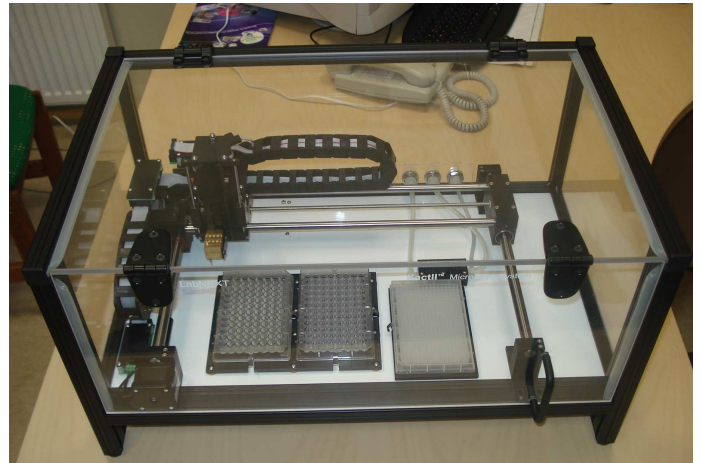
VI. IERĪCES PARAMETRI NO TEHNISKĀ UZDEVUMA

- 1) Augsta blīvuma biočipa iespiešana, vairāk kā 30 000 punktu uz stikla 25x75 mm.
- 2) Iespēšanas iespējamība uz polimēru membrānām, uz 96-bedrīšu planšetes.
- 3) Robota komplektācija ar magnētiskajiem fiksatoriem lokanajām membrānām.
- 4) Pārvietošanās ceļš pa x-komponenti 270 mm, pārvietošanās precizitāte (ne vairāk) $\pm 0,01$ mm,
- 5) Pārvietošanās ceļš pa y-komponenti 380 mm, pārvietošanās precizitāte (ne vairāk) $\pm 0,01$ mm,
- 6) Pārvietošanās ceļš pa z-komponenti 70 mm, pārvietošanās precizitāte (ne vairāk) $\pm 0,01$ mm,
- 7) Punktu uznešanas precizitāte $\pm 0,01$ mm, uz visa darba lauka 270x380 mm.
- 8) Iespējamība veikt iespiešanu vienlaicīgi ar vairākām adatām: no 1 līdz 16 adatas.
- 9) Ierīces vadība ar personālā datora palīdzību.
- 10) Stiklu uzstādīšana vienlaicīgi biočipu iespiešanai: 14 gab. un viena 96-bedrīšu planšete, vai arī trīs planšetes vienlaicīgi.
- 11) Ierīces korpusa gabarīti: 650x510x310 mm.
- 12) Ierīces svars: 15 kg.

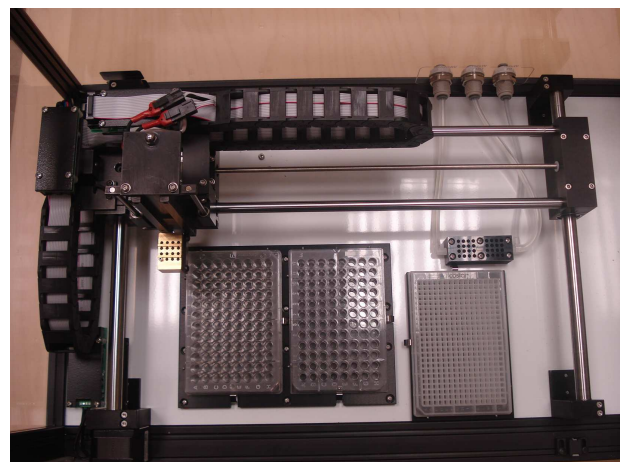
- 13) Patērējamā enerģija: 100-240 V ar darbības frekvenci 40-60 Hz.

Konstruējot iekārtu, šim nolūkam tiek risināti šādi galvenie uzdevumi:

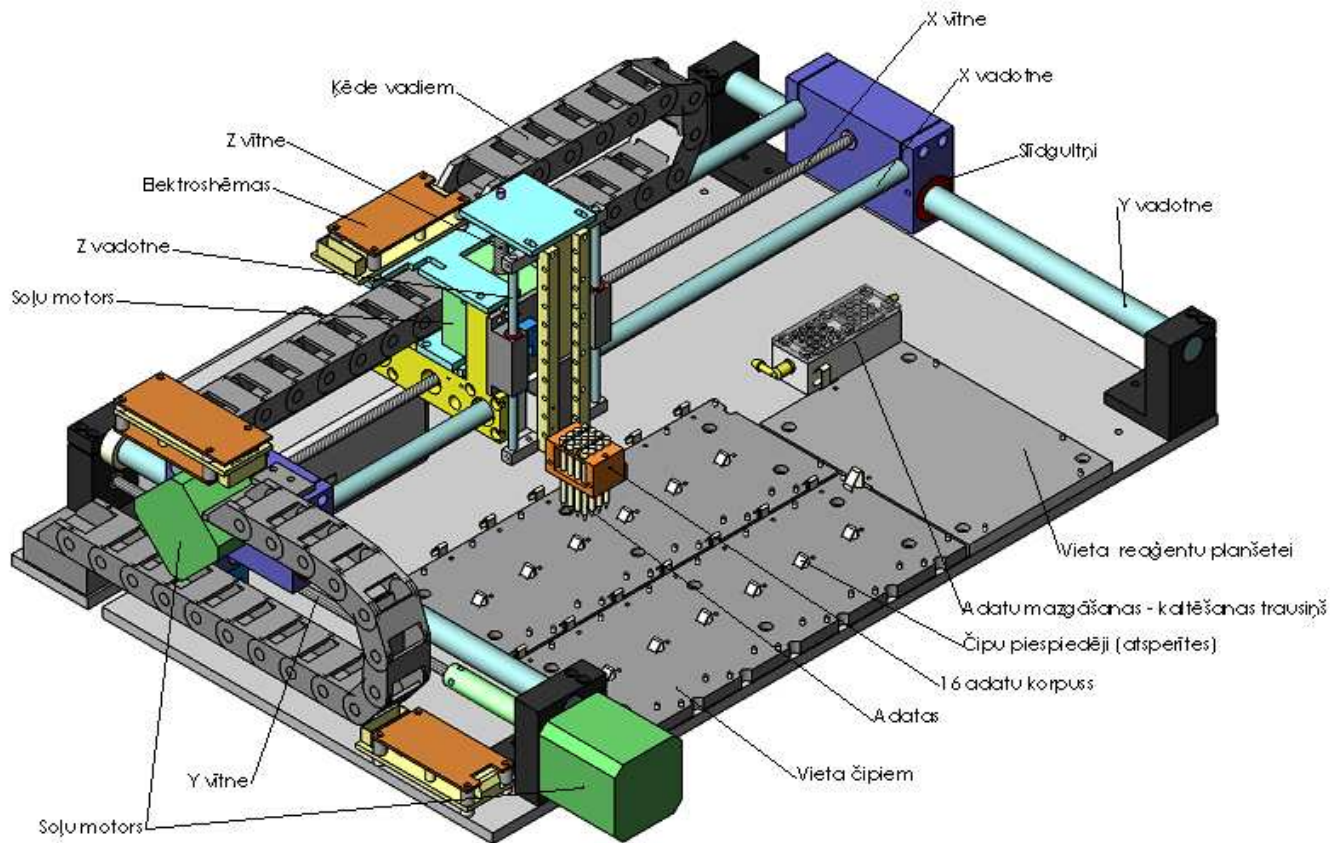
- 1) Esošo analogisko ierīču parametru analīze. To stipro un vājo pušu noteikšana. Optimālo konstruktīvo risinājumu shēmu izvēle.
- 2) Mehāniskās padeves konstrukcijas noteikšana katrai, atkarībā no konstrukcijas precizitātes un gabarītu prasībām.
- 3) Pieejamu un pēc cenas optimālu komplektējošo detaļu meklēšana un izvēle (gultņi, vadotnes, zobsiksnas, padevējskrūves, zobratī u.t.t.) no izstrādājamo konstrukciju kataloga.
- 4) Konstrukciju izstrāde un modelēšana SOLID WORKS vidē.
- 5) Precizitātes klašu un pielaižu noteikšana izstrādājamajām detaļām.
- 6) Rasējumu komplektu izgatavošana ierīču izstrādei un salikšanai.
- 7) Rasējumu nodošana ražošanai detaļu izgatavošanai.
- 8) Konstrukcijas salikšana un konstruktor- dokumentācijas nepieciešamā korekcija.



12. att. Izgatavotais robots



13. att. Izgatavotais robots



11. att. Izstrādātais robota rasējums

VII. APARĀTA DINAMISKA MODEĻĒŠANA AR MATHCAD

Šajā sadaļā ir aplūkots objekta kustība, kas pārvietojas 3D plaknē. Un ir izskatīti divi varianti, kad komponentei ieslēdzas visi trīs režīmi pa X, Y un Z asīm, un kad tas notiek secībā viens pēc otra.

Tātad, kā pirmo aplūkojam variantu, kad komponentes uzsāk kustību vienlaicīgi pa visām asīm. Uzdevuma dotie lielumi:

$$\begin{aligned} n &:= 0..1000 & s &:= 0,001 \\ x1 &:= 0,5 & y1 &:= 0,6 & z1 &:= 0,4 \\ v10 &:= 1 & v20 &:= 3 & v30 &:= 2 \end{aligned}$$

kur:

n – integrēšanas tekošais solis;

s – laika soļa garums;

x1 – pārvietojums pa x asi;

y1 – pārvietojums pa y asi;

z1 – pārvietojums pa z asi;

v10, v20, v30 – ātrumi attiecīgi uz visām trijām pusēm.

Sākuma nosacījumi:

$$\begin{pmatrix} x_0 \\ y_0 \\ z_0 \end{pmatrix} := \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix}$$

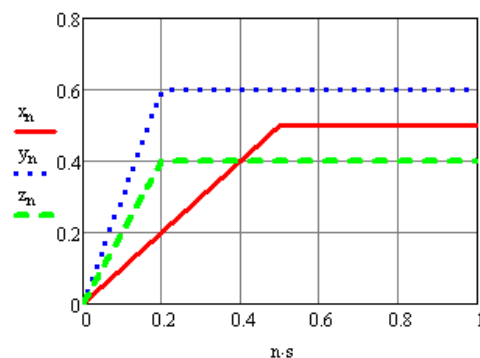
Sastādītie vienādojumi:

$$x_{n+1} := x_n + s \cdot v10 \left(0.5 - 0.5 \cdot \frac{x_n - x1}{|x_n - x1|} \right) \quad (1)$$

$$y_{n+1} := y_n + s \cdot v20 \left(0.5 - 0.5 \cdot \frac{y_n - y1}{|y_n - y1|} \right) \quad (2)$$

$$z_{n+1} := z_n + s \cdot v30 \left(0.5 - 0.5 \cdot \frac{z_n - z1}{|z_n - z1|} \right) \quad (3)$$

Iegūtais grafiks:



14. att. Pārvietojuma un laika attiecība; 1. variants

Otrs variants ir, kad katra komponente ieslēdzas secībā viena pēc otras. Dotie lielumi paliek tie paši.
Sākuma nosacījumi:

$$\begin{pmatrix} x_0 \\ y_0 \\ z_0 \end{pmatrix} := \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix}$$

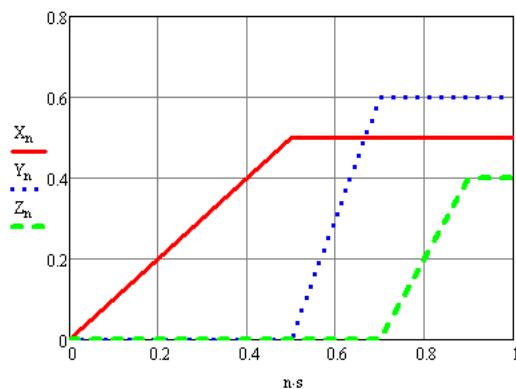
Sastādītie vienādojumi:

$$x_{n+1} := x_n + s \cdot v10 \left(0.5 - 0.5 \cdot \frac{x_n - x1}{|x_n - x1|} \right) \quad (4)$$

$$y_{n+1} := y_n + s \cdot v20 \left(0.5 - 0.5 \cdot \frac{y_n - y1}{|y_n - y1|} \right) \cdot \left(0.5 + 0.5 \cdot \frac{x_n - x1}{|x_n - x1|} \right) \quad (5)$$

$$z_{n+1} := z_n + s \cdot v30 \left(0.5 - 0.5 \cdot \frac{z_n - z1}{|z_n - z1|} \right) \cdot \left(0.5 + 0.5 \cdot \frac{x_n - x1}{|x_n - x1|} \right) \cdot \left(0.5 + 0.5 \cdot \frac{y_n - y1}{|y_n - y1|} \right) \quad (6)$$

Iegūtais grafiks:



15. att. Pārvietoējuma un laika attiecība; 2. Variants

Te nu arī salīdzinot redzam, ka viennozīmīgi labāks variants ir, ja visas komponentes strādā vienlaicīgi, kas dod uz pusi mazāku darba izpildes laiku, kas ir ļoti būtiski.

X. SECINĀJUMI

Konstruējot iekārtas, tiek meklēts vislabākais konstruktīvais risinājums, jāizvēlas tehniski nepieciešamas un ekonomiski atbilstošas kinemātiskas un konstruktīvas izstrādājuma shēmas, detaļu formas, materiāli, izmēri, precizitātes un gluduma klases. Nepieciešams paredzēt visas iespējas materiālu, darbaspēka un citu izmaksu ekonomijai, kas saistīta ar konstrukcijas izgatavošanu. Saliekot šo visu kopā, tiek meklēts optimālais variants, lai iekārtas pašizmaksa nesasniegtu tādu līmeni, ka pēc tam to būtu grūti virzīt tirgū.

Minētā ierīce tiek konstruēta un gatavota tā, lai tā būtu pēc iespējas ērtāka un kvalitāte pēc iespējas labāka atbilstoši cenai. Tā ir nano tehnoloģija. Pasaulē ir tikai dažas kompānijas, kas nodarbojas ar šādu biočipu robotu ražotni. Arī tūri tehnoloģiskā ziņā šis ir ļoti sarežģīti izgatavojams aparāts, jo ir vajadzīga vislielākā precizitāte. Jo, kā jau tika minēts, ierīces robežās jābūt iespējai uzlikt vairāk kā 30 000 punktu uz stikla 25x75 mm.

LITERATŪRA

1. <http://www.anthos-labtec.com/documents/Anthos/distributors/42.pdf>
2. <http://www.awaretech.com/products/SF3200.htm>
3. <http://www.anthos-labtec.com/documents/Anthos/distributors/46.pdf>
4. http://www.freidok.uni-freiburg.de/volltexte/1885/pdf/Dissertation_DF.pdf
5. <http://www.arrayit.com/Products/MicrorayI/NanoPrint/nanoprint.html>
6. <http://www.drugdiscoveryonline.com/Content/news/article.asp?Bucket=Article&DocID=b8c365c1-ee04-11d3-8c24-009027de0829&VNETCOOKIE=NO>
7. <http://www.affymetrix.com/products/instruments/specific/arraystation.affx>
8. <http://www.abgene.com/productDetails.asp?prodID=120>

Atis Vilkajs, doctoral student, Riga Technical University, Institute of Mechanics. Address: 6 Ezermalas Street, Riga, LV-1006, Latvia. Phone: +371 6708 9332. Fax: +371 6227820094. E-mail: atis.vilkajs@rtu.lv

Sergejs Djacenko, Dr.Phys., director, SIA Biotechnomica. Address: 7 Ratsupites Street, Riga, LV-1000, Latvia. Phone: +371 2643 5986. Fax: +371 67428101. E-mail: sergejs@biosan.lv

Janis Viba, Dr.habil. sc.ing., professor, Riga Technical University, Institute of Mechanics. Address: 6 Ezermalas Street, Riga, LV-1006, Latvia. Phone: +371 6708 9332. Fax: +371 6227820094. E-mail: janis.viba@rtu.lv

Atis Vilkajs, Sergejs Djacenko, Janis Viba. Development of biochip robot

The given work is involving with direct and concrete point, like: a projection and production of real equipment, what can be successful realized at world market. This equipment is bio-chip robot. It can be used at biomedical laboratories, that to carry out a delicate and complicate analysis. That's why at work is mention what is this functions and what kind of analysis robot needs to deal with. A robot action range is with a refined exactness, with the possible error to 0,01 mm. The choice of materials, their utility, is careful estimated till with it, loading endurance to the given work circumstances and longevity. The necessary electric guidance system, which provides the necessary motion exactness, is also understood similarly. That design equipment, before is define the main task, criterions and parameters, what will make cost price. The equipment is projected at Solid Work program, were materials is strict appraise and define precision class. Constructing equipment, such main tasks are decided this intention: analysis of parameters of the being analogical devices. This determine of the strong and weak halves. Choice of charts of the optimum structural decisions; construction of the mechanical serve determine, depending on construction exactness and requirements of sizes; accessible and of price optimum completing details from the catalogue of the produce constructions (bearings, belts, cog-wheels, screw-bolt etc.); making of constructions and design in the Solid Work program; determine of exactness classes and admittances the produce details; making of complete sets of drafts making of devices and fold; betray of drawings production making of details; construction fold and documentation necessary correction. At final result is create such equipment, with define it parameters. Further details do not to make public of company confidentiality.

Атис Вилкайс, Сергей Дяченко, Янис Виба. Разработка биочипового робота

Это описание работы связано с прямой и конкретной целью: проектирование и изготовление реального прибора, который удачно реализовался бы на мировом рынке. Устройство - робот биочипов. Задача прибора исследовать утонченные и сложные анализы в биомедицинских лабораториях. Поэтому в описании упомянуто, какие функции и что это за анализы, с которыми робот должен справиться. Например, анализ ДНК. Диапазон действия робота с утонченной точностью - с допустимой ошибкой до 0,01 mm. Вместе с этим тщательно оценен выбор материалов, их полезность, устойчивость к нагрузке в данных условиях работы и долговечность. Так же выбрана необходимая электрическая система руководства, которая обеспечила бы нужную точность движения. Определены основные задачи, критерии и параметры при конструировании устройства. Проанализированы параметры существующих аналогичных устройств с целью выявления достоинств и недостатков, выбрана схема оптимальных конструктивных решений. В зависимости от габаритов и точности конструкции разработан механизм подачи. Сделан поиск и выбор деталей по каталогам. При этом учтена себестоимость. Устройство конструировано в программе Solid Work, где строго оценен выбор материалов и классы определенной точности. Разработан комплект чертежей для изготовления деталей и сборки устройства, который передается для изготовления. После сборки устройства следует уточнение конструкторской документации. В результате создано устройство с нужными параметрами. Более подробная информация не разглашена из-за конфиденциальности предприятия.