



Universiteit Antwerpen
Faculteit Toegepaste
Ingenieurswetenschappen

Universiteit Antwerpen

Faculteit Toegepaste
Ingenieurswetenschappen

Ontwerp en ontwikkeling van een modulair elektronisch pipettesysteem

Sybe De Backer

Promotor: Prof. Dr. Ir. Amélie Chevalier

Mentor: Dr. Ing. Jona Gladines

Een eindwerk ingediend bij
Universiteit Antwerpen voor het diploma
Bachelor in de Industriële Wetenschappen: Elektromechanica

Academiejaar 2024-2025

Inhoud

List of Figures	ii
List of Tables	iii
1 Inleiding	1
1.1 Labo-automatisatie	1
1.2 Breder kader	1
1.2.1 Reproduceerbaarheidscrisis	1
1.2.2 Robotic labs	1
1.2.3 Bron van de reproduceerbaarheidscrisis	2
1.3 Robotic labs als oplossing voor reproduceerbaarheidscrisis	2
1.4 Pipetrobot als onderdeel van Robotic lab	2
1.5 Probleemstelling	2
2 Achtergrond	3
2.1 Displacement pipetten	3
2.1.1 Air-Displacement	3
2.1.2 Positive Displacement	3
2.2 Pipette types	3
2.2.1 Mondpipetten	3
2.2.2 Analoge pipetten	4
2.2.3 Elektronische pipetten	4
3 Methode	5
4 Resultaten	6
5 Conclusies	7
References	8

List of Figures

List of Tables

Hoofdstuk 1

Inleiding

1.1 Labo-automatisatie

In de afgelopen jaren hebben robotische processen de manier waarop we experimenten en de bijhorende labotaken uitvoeren veranderd. Geautomatiseerde systemen hebben, vooral in biomedisch en moleculair onderzoek, een enorm potentieel aangetoond voor het verhogen van de reproduceerbaarheid van experimenten, het stroomlijnen van experimentele methoden en het verminderen van de impact van menselijke fouten.[1] Deze thesis zal zich richten op de ontwikkeling van een robotisch pipetteersysteem dat is afgestemd op de behoeften van de onderzoeksgroep voor Translational Neurosciences aan de Universiteit Antwerpen. Zij trachten hiermee de robuustheid en reproduceerbaarheid van hun experimenten te verbeteren. Dit gebeurt in het kader van een bredere automatisering van hun Labo. Door een van de kernuitdagingen in experimentele reproduceerbaarheid aan te pakken probeert dit werk bij te dragen aan bredere inspanningen om betrouwbare onderzoeksinstrumenten te creëren.

1.2 Breder kader

1.2.1 Reproduceerbaarheids crisis

Reproduceerbaarheid is een hoeksteen van wetenschappelijk onderzoek en zorgt ervoor dat resultaten onafhankelijk kunnen worden geverifieerd en uitgebreid. Studies hebben echter gewezen op een groeiende reproduceerbaarheids crisis in onder meer biomedisch onderzoek, veroorzaakt door inconsistenties in handmatige procedures, subjectieve beoordelingen en omgevingsvariabiliteit. [2] De reproduceerbaarheids crisis verwijst naar de moeilijkheid om wetenschappelijke resultaten consistent te repliceren, een probleem dat zowel technische als sociale oorzaken kent. Dit gebrek aan reproductie heeft een significante impact op bijvoorbeeld kankeronderzoek en andere gerelateerde onderzoeks-disciplines. [3]

1.2.2 Robotic labs

Onderzoekers kijken onder andere naar robotische labo's als oplossing. Dit zijn labo's waarbij een deel van, of alle, taken worden uitgevoerd door robots. Deze dragen als voordeel met zich mee dat repetitieve taken niet langer door mensen moeten uitgevoerd worden. Deze kunnen dan aan lage kost parallel uitgevoerd worden. Dit heeft in bijvoorbeeld genoomonderzoek al voor een grote versnelling gezorgd doorheen de laatste twee decennia. Dit komt doordat labo's nu sneller stalen kunnen analyseren. Onderzoek toont aan dat deze versnelling grotendeels door geautomatiseerde labo's wordt gedreven en dat niet geautomatiseerde labo's zelfs achterlopen.[4]

1.2.3 Bron van de reproduceerbaarheidscrisis

De reproduceerbaarheidscrisis heeft diverse oorzaken. Vaak word er gekeken naar de sociale en economische aspecten van wetenschap.[4] Hierbij is de druk om origineel onderzoek te publiceren zo groot dat dit een druk uitoefent op de bestaande systemen van peer-evaluatie en worden resultaten soms herwerkt tot ze een significante ontdekking vertonen met methodes als “p-hacking”.[2, 5] Er zijn echter ook technische beperkingen. Zo worden, door menselijke fouten, handelingen niet altijd uitgevoerd zoals ze in het experiment beschreven staan.

1.3 Robotic labs als oplossing voor reproduceerbaarheidscrisis

Door het automatiseren van enkele of alle taken wordt de mogelijkheid tot menselijke fout verlaagd. Robots kunnen ervoor zorgen dat repetitieve taken telkens op dezelfde manier worden uitgevoerd. Bij het manueel pipetteren zijn dit vaak taken waar vermoeidheid en fysieke klachten voor variatie kunnen zorgen. [6] Doordat deze systemen programmeerbaar zijn en deterministisch werken is het mogelijk om de exacte handelingen te delen zonder de kans dat stappen worden weggelaten.

1.4 Pipetrobot als onderdeel van Robotic lab

Geautomatiseerde labo's hebben echter nog een belangrijk minpunt. De investeringskosten zijn groot en het automatiseren van een volledig labo kan lang duren. De efficiëntie-winst wordt steeds beperkter naarmate de doorvoer van het labo de werkbelasting bereikt. Voor veel, kleinere, labo's is dit dan ook niet altijd interessant. Als compromis stellen onderzoekers semi-automatisatie voor. Hierbij werd gekeken naar welke stappen de grootste impact hebben en concludeerde men dat de belangrijkste winsten voortkomen uit het automatiseren van de meest repetitieve en tijdrovende taken. Hierbij werd hoofdzakelijk pipetteren als kandidaat gezien.[7, 8]

1.5 Probleemstelling

Als einddoel zal er getracht worden om een systeem te voorzien dat met een API zal toelaten om programmatisch pipet-handelingen te ondernemen. Het systeem zal zo ontworpen worden dat het geïntegreerd kan worden met bestaande robots, als end effector. Door deze zo kosten-efficiënt mogelijk te ontwerpen is het de bedoeling dat deze robot toegankelijk zal zijn voor labo's die de hoge investeringskosten van deze automatiseringssystemen willen vermijden. De thesis zal zich specifiek richten op het beantwoorden van de vraag:

Welke ontwerp- en implementatievereisten zijn nodig voor de ontwikkeling van een programmeerbare, kosten-efficiënte pipetrobot die reproduceerbaarheid in laboratoria verbetert?

Een van de belangrijkste doelstellingen is het creëren van een kostenefficiënte oplossing voor laboratoria die zich geen dure, volledig geautomatiseerde systemen kunnen veroorloven. Door een aangepast ontwerp aan te bieden, kunnen laboratoria kiezen voor een oplossing die voldoet aan hun specifieke behoeften zonder overbodige kosten. Dit betekent ook dat er open source software en hardware gebruikt kan worden om de initiële kosten te drukken, en tegelijkertijd flexibiliteit en uitbreidbaarheid te bieden. Dit biedt een aantrekkelijk alternatief voor de dure commerciële systemen die vaak voorgeconfigureerd zijn en weinig ruimte laten voor aanpassing. De uitvoering is modulair zodat aanpassingen aan het ontwerp eenvoudig kunnen toegepast worden. Zo is het mogelijk om dit ontwerp aan verschillende toepassingsgebieden en robots aan te passen. Python zal de programmeertaal zijn waar de eindgebruiker pipetteertaken via een API kan aansturen.

Hoofdstuk 2

Achtergrond

2.1 Displacement pipetten

2.1.1 Air-Displacement

Bij Air-Displacement pipetten wordt er geen direct contact gemaakt tussen de vloeistof en de zuiger. Er is een laag lucht die tussen de vloeistof en de zuiger zit. Dit zorgt ervoor dat er geen contaminatie van de vloeistof kan optreden. Dit is een belangrijk voordeel. Er wordt echter wel aan nauwkeurigheid ingeboet. Dit komt door de aanwezigheid van zowel luchtdrukverschijnselen als oppervlaktespanningen in de vloeistof. Deze fouten kunnen deels verholpen worden met correctieberekeningen zoals in [9] of lookup-tabellen zoals in [10]. Dit is echter niet altijd mogelijk. Bij het pipetteren van zeer kleine volumes kan de invloed van de oppervlaktespanning zo groot zijn dat er geen correctie meer mogelijk is. Dit komt doordat de oppervlaktespanning een grotere invloed heeft op de vloeistof dan de luchtdruk. Dit kan opgelost worden door gebruik te maken van een andere techniek, namelijk positive displacement zoals beschreven in [9].

Theoretische achtergrond

In [9] staat beschreven hoe een air-displacement pipet werkt via de ideale gaswet. Er wordt een omgeving van lagere druk gecreëerd door het veranderen van het volume van de pipet voor aspiratie. Dit volume wordt ingenomen door de vloeistof waar de pipet zich in bevindt. Bij een mondpipet wordt deze negatieve druk gecreëerd door de longen van de operator. Bij de mechanische pipet wordt deze via de peer gecreëerd door deze initieel in te drukken en daarna terug te laten opvullen.

2.1.2 Positive Displacement

Positive displacement pipetten zijn een alternatieve oplossing waarbij er wel contact is tussen de vloeistof en de zuiger. Er treden dus geen oppervlaktespanningen op aangezien de vloeistof overal contact maakt met de zuiger. Dit heeft voordelen op vlak van precisie. Vooral bij vloeistoffen die sterk verschillen van water. Zo worden positive displacement pipetten in [11] voorgesteld als methode om cel-cultuur-media of BSA te pipetteren. Ze dragen echter een groter risico op contaminatie, al kan dit wel verholpen worden.

2.2 Pipette types

2.2.1 Mondpipetten

Mondpipetten waren doorheen de 19e en in het begin van de 20e eeuw de standaard voor het pipetteren. De operator zorgde hier zelf voor een negatieve druk door in te ademen. Dit was enkel

mogelijk als air-displacement pipet. In [12] wordt bijvoorbeeld een ontwerp voor een mondpipet voorgesteld om steriliteitstesten mee uit te voeren. In 1950 werd door A. J. Swallow in [13] de eerste mechanische pipet voorgesteld voor het pipetteren van radioactieve stoffen. Hierdoor was er geen contact mogelijk tussen de mond en de te pipetteren vloeistof. Dit helpt ook bij het vermijden van besmetting van labopersoneel zoals beschreven in [14].

2.2.2 Analoge pipetten

Analoge pipetten, zoals beschreven in o.a. de patenten [15] en [16], werken op basis van een zuigerwerking. De slag van de zuiger kan voor de aspiratie bepaald worden door middel van een wiel in geval van [16] of door twee elementen in elkaar te schroeven in geval van [15]. Bij [16] zal dit wiel, door het axiaal verschuiven van een loodschroef, de zuigerstang verschuiven. In rustpositie zal deze dus korter lijken bij een kleiner ingesteld volume. De zuigerstang kan dan ingedrukt worden tot een stop-nut, deze blijft altijd op de zelfde plaats. Doordat de beginpositie aangepast wordt, wordt ook de slag van de zuiger aangepast. Hiermee wordt het volume bepaald. [15] volgt een gelijkaardig principe. Hier zal echter de eindpositie bepaald worden door het onderste deel verder te schroeven.

De analoge pipetten beschreven in deze patenten gebruiken air-displacement maar deze pipetten kunnen ook met positive displacement gevonden worden. In geval van [16] gebeurt dit met een zuiger (44) die relatief verder van de pipetteer-punt (28) staat dan bij [15]. [15] is eenvoudiger uitgevoerd dan [16]. Er zijn minder dichtingen en er is geen display om het gewenste volume van af te lezen. Dit maakt echter ook dat [15] meer problemen zal hebben op vlak van lekkage en dus precisie.

2.2.3 Elektronische pipetten

Elektronische Pipetten bouwen verder op dezelfde principes als analoge pipetten. Bij elektronische pipetten wordt de actuatie van de zuiger motorisch aangedreven. Zo wordt dit in [10] met een stappermotor gedaan. Dit laat toe om de zuiger met een hoge precisie te verplaatsen. Voor deze methode is de precisie van de motor cruciaal aangezien dit de maximale precisie van de pipet zal bepalen. In het eerder genoemde patent wordt hiervoor gebruik gemaakt van microstepping. Microstepping is een belangrijk voordeel van stappermotoren en laat toe om met een precisie van enkele tientallen nl te pipetteren.

De rotationele beweging van de motor moet omgezet worden tot een axiale beweging in de zuiger. In het geval van [10] wordt dit met een leadscrew gedaan. Om te bepalen hoeveel stappen er voor een bepaald volume nodig zijn wordt er in het patent gebruik gemaakt van een lookup-tabel met empirisch bepaalde waarden. Ook is er een calibratietabel die deze waarden verfijnt naar de toepassing. Deze houdt mede rekening met oppervlaktespanningen en atmosferische invloeden.

In het geval van een stappermotor kan er ook een vergelijking afgeleid worden op basis van de lood van de schroef, de doorsnede van de zuiger en het aantal stappen per rotatie. Dit gaat echter uit van ideale omstandigheden zonder gemiste stappen en is dus niet realistisch. Gemiste stappen zijn dan ook een beperkende factor voor stappermotoren aangezien dit leidt tot fouten in het gepipeteerde volume. [17] maakt gebruik van een sensor om verplaatsing van de zuiger te bepalen. Dit maakt een closed-loop systeem met mogelijkheid tot regeling.

Hoofdstuk 3

Methode

Hoofdstuk 4

Resultaten

Hoofdstuk 5

Conclusies

References

- [1] P. Groth and J. Cox, "Indicators for the use of robotic labs in basic biomedical research: a literature analysis," *PeerJ*, vol. 5, p. e3997, 2017. [Online]. Available: <https://dx.doi.org/10.7717/peerj.3997>
- [2] M. Baker, "1,500 scientists lift the lid on reproducibility," *Nature*, vol. 533, no. 7604, pp. 452–454, 2016. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/533452a>
- [3] C. G. Begley and L. M. Ellis, "Raise standards for preclinical cancer research," *Nature*, vol. 483, no. 7391, pp. 531–533, 2012. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/483531a>
- [4] Z. Chen, "The reproducibility crisis in scientific research: Causes and solutions," *International Journal of Open Publication and Exploration*, ISSN: 3006-2853, vol. 8, no. 2, pp. 30–35, 2020. [Online]. Available: <https://ijope.com/index.php/home/article/view/81>
- [5] Y. Gil and D. Garijo, "Towards automating data narratives," p. 565–576, 2017. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1145/3025171.3025193>
- [6] X. L. Guan, D. P. S. Chang, Z. X. Mok, and B. Lee, "Assessing variations in manual pipetting: An under-investigated requirement of good laboratory practice," *Journal of Mass Spectrometry and Advances in the Clinical Lab*, vol. 30, pp. 25–29, 2023. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2667145X23000317>
- [7] A. Christler, E. Felföldi, M. Mosor, D. Sauer, N. Walch, A. Dürauer, and A. Jungbauer, "Semi-automation of process analytics reduces operator effect," *Bioprocess and Biosystems Engineering*, vol. 43, no. 5, pp. 753–764, 2020. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02254-y>
- [8] S. J. Slate, C. C. Tryon, F. E. Uribe, W. Howland, M. Marshall, and R. C. Voicu, "Improving biomedical systems with robotics & automation," in *2022 IEEE 19th International Conference on Smart Communities: Improving Quality of Life Using ICT, IoT and AI (HONET)*, Conference Proceedings, pp. 105–110.
- [9] T. W. Astle, "Small volume pipetting," *JALA: Journal of the Association for Laboratory Automation*, vol. 3, no. 3, pp. 62–64, 1998, doi: 10.1177/221106829800300317. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1177/221106829800300317>
- [10] E. Nelson Gary, P. Kalmakis George, R. L. Keene, J. Novak, K. Steiner, J. Finger, G. Mathus, and R. Cote, "Electronic pipettor with improved accuracy," 2009/04/13 2012.
- [11] H. A. Henke and A. G. Eppendorf, "Five challenges in plate assays that can be mastered by the right choice of pipetting tool."
- [12] W. E. Bunney, "Pipettes for use in routine sterility tests," *American Journal of Public Health and the Nations Health*, vol. 25, no. 2, pp. 207–208, 1935.

- [13] A. J. Swallow, "A new type of pipette for radioactive solutions," *Nature*, vol. 165, no. 4189, pp. 249–249, 1950. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/165249b0>
- [14] W. E. Barkley, "Mouth pipetting: A threat more difficult to eradicate than small pox," *Journal of the American Biological Safety Association*, vol. 2, no. 2, pp. 7–10, 1997.
- [15] J. Shapiro Justin, "Adjustable volume pipette sampler," 1986/08/08 1988.
- [16] K. Al-Mahareeq and A. Al-Mahrouq Hasan, "Pipette with an axially stationary volume adjusting wheel," 1992/05/13 1994.
- [17] M. Lind and A. Pekkanen, "Electronic pipette," 2014/12/10 2019.