

SPRAWOZDANIE

ĆWICZENIE: 5		TERMIN: PT 16:45-19:00	DATA: 05.12.2023	GRUPA: C4
TEMAT: INSTRUMENT LAB-ON-A-CHIP DO ELEKTROFOREZY KAPILARNEJ				
1.	MICHAŁ	KOZŁOWSKI	268693	
2.	MATEUSZ	KOWALCZYK	268533	

Wprowadzenie

Obiektem naszych badań na laboratorium był lab-chip wykonany ze szkła, który był wykorzystywany przez aparaturę do elektroforetycznej analizy materiału genetycznego z detekcją fluorymetryczną.

Lab-chip to zaawansowane urządzenie laboratoryjne wykorzystywane do przeprowadzania różnorodnych eksperymentów biologicznych, chemicznych i biochemicznych. Jego główną rolą jest umożliwienie miniaturyzacji i automatyzacji procedur laboratoryjnych.

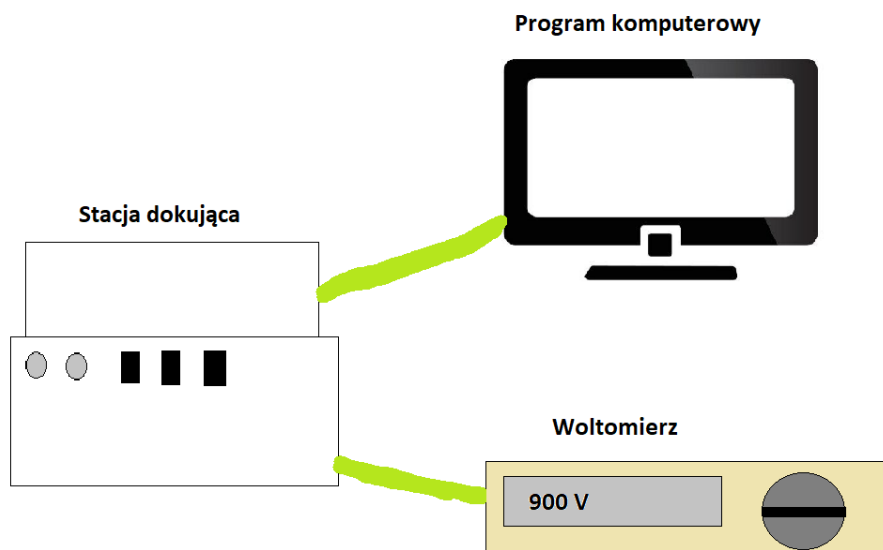
Aparatura do elektroforetycznej analizy materiału genetycznego doprowadza do lab-chipa wysokie napięcie- do 1000V oraz jest wyposażona w grzałki, które są w stanie podgrzać chip do żądanej temperatury.

W przypadku tego ćwiczenia, elektroforeza jest wykorzystana do analizy markerów fluorescencyjnych, a detekcja fluorymetryczna pozwala na dokładne określenie obecności i ilości tych markerów. Elektroforeza zachodzi w lab-chipie i jest na bieżąco analizowana przez program komputerowy.

Metoda

Stanowisko składa się z: woltomierza, stacji dokującej, komputera wykorzystującego program Electrophoresis oraz stanowiska przygotowania chipa które składa się m.in. z pompy, odczynników wprowadzanych do lab-chipu oraz pipet. Przed rozpoczęciem ćwiczenia sprawdziliśmy kompletność stanowiska oraz upewniliśmy się, że stanowisko pomiarowe jest w pełni sprawne.

Gdy byliśmy pewni, że mikrokanał jest wyczyszczony wprowadzaliśmy pipetą bufor elektrodowy do mikrokanału chipa, a następnie wprowadziliśmy 0,8 μ L granatowego barwnika do mikrokanału. Po wykonaniu pomiaru odsysaliśmy zawartość chipa pompką, do czyszczenia wykorzystywaliśmy również odczynnik czyszczący. Przygotowany chip, którego mikrokanał wypełniony jest buforem i barwnikiem umieszczany w stacji dokującej. Po wykonaniu pomiaru chip musi zostać ponownie wyczyszczony.

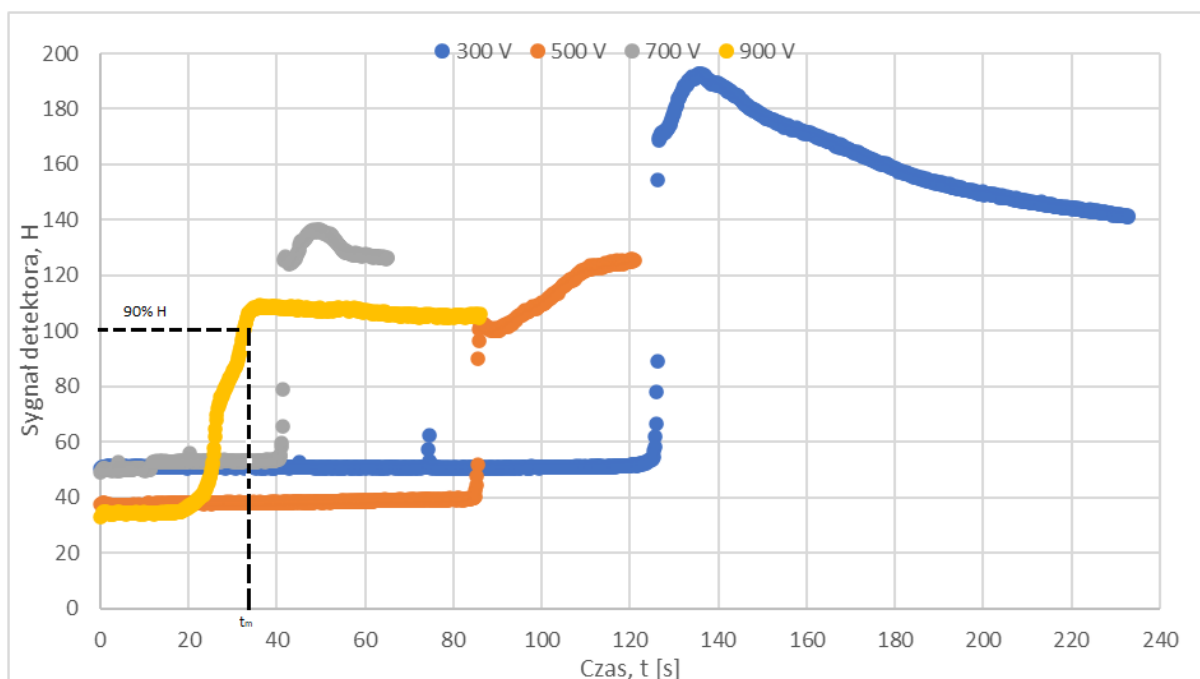


Rys.1 Schemat układu pomiarowego



Rys.2 Chip do elektroforezy, widok z góry

Eksperyment



Rys.3 Wykres zależności sygnału detektora od czasu dla różnych wartości napięcia

U	T	t _m	H	0,9 H	v	μ
V	°C	s	-	-	cm/s	cm ² /V*s
900	25	32,13	108,26	97,4	0,084	2,8 * 10 ⁻⁴
700	25	41,5	126,1	113,5	0,065	2,8 * 10 ⁻⁴
500	25	85,6	102,5	92,25	0,032	1,9 * 10 ⁻⁴
300	25	128,7	192,2	173	0,021	2,1 * 10 ⁻⁴

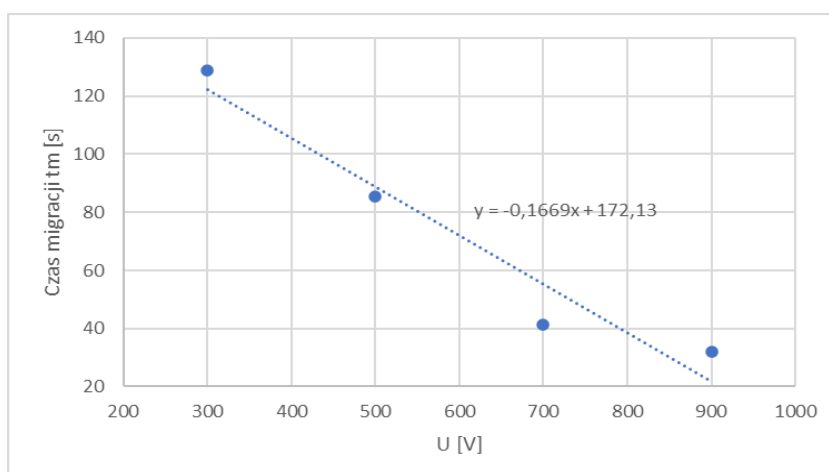
Tab.1 Tabela pomiarowa i obliczeniowa

Przykładowe obliczenia dla U= 900 V

$$v = E \cdot \mu = L_{\text{eff}} / t_m, \quad \text{gdzie } E = U/L, \quad L_{\text{eff}} = 27 \text{ mm}, \quad L = 30 \text{ mm}$$

$$E = 900\text{V}/3\text{cm} = 300 \text{ V/cm} \quad \mu = L_{\text{eff}}/t_m \cdot 1/E = 2,7/32,13 \cdot 1/300 = 2,8 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{V*s}$$

$$v = 300 \cdot 0,00028 = 0,084 \text{ cm/s}$$



Rys.4 Wykres zależności czasu migracji od napięcia U

Wnioski i podsumowanie

Stosując wyższe napięcie jesteśmy w stanie osiągnąć lepszy sygnał odpowiedzi z detektora oraz uzyskać krótszy czas migracji markera (Rys.4). Chcąc uzyskać jak najkrótszy czas migracji należy użyć możliwie największego napięcia, zbyt duże napięcie może zaburzyć proces analizy próbki w chipie.

Parametry analizy, takie jak napięcie i temperatura mają istotny wpływ na szybkość i mobilność jonową markera. Wyższe napięcie powoduje wzrost ruchliwości jonowej. Wyższa temperatura może zwiększyć ruchliwość molekuł, co również może wpływać na szybkość oddzielania markerów. Jednak istnieje pewne ograniczenie związane z potencjalnym przegrzaniem się układu lub degradacją próbek. Optymalne wartości napięcia będą zależne od konkretnych warunków eksperymentalnych, ale istnieje ryzyko, że zbyt wysokie napięcie może negatywnie wpłynąć na jakość analizy lub spowodować zniekształcenie wyników.

Wydłużenie kanału separacyjnego wydłuży czas trwania analizy, ponieważ droga, którą muszą pokonać markery zwiększy się. To zwiększenie odległości wpłynęłoby na czas

potrzebny do osiągnięcia separacji oczekiwanych komponentów. Wzrost długości kanału spowodowałby również spadek ruchliwości jonowej.

Rola studenta

Analiza stanu techniki: Michał Kozłowski, Mateusz Kowalczyk; **Kontrola stanowiska przed wykonaniem badań:** Michał Kozłowski, Mateusz Kowalczyk; **Przeprowadzenie badań:** Michał Kozłowski, Mateusz Kowalczyk; **Przetwarzanie wyników:** Michał Kozłowski; **Edycja sprawozdania:** Michał Kozłowski; **Kontrola jakości sprawozdania:** Mateusz Kowalczyk

Bibliografia

[1] Miniature instrument for lab-on-a-chip capillary gel electrophoresis of DNA utilizing temperature control technique Wojciech Kubicki , Rafał Walczak, Jan A. Dziuban, Division of Microengineering and Photovoltaics, Wrocław University of Technology