

How to make *an automated microplate dispenser*

Een zoektocht naar balans tussen precisie, snelheid en betaalbaarheid

Team ELISA

Matthias Derez, Maxime Dujardin, Korneel Verkens, Seppe Vilain

Academiejaar 2019 – 2020

Inhoudsopgave

1	Klantenvereisten	4
2	Ontwerpspecificaties	5
3	Ontwerp	6
3.1	Werking	6
3.2	Voordelen ontwerp	6
4	Realisatie ontwerp	8
4.1	Chassis	8
4.2	Transportplaat	8
4.3	Steppermotor	9
4.4	Waterpomp	9
4.5	Microcontroller	9
5	Programmeerstructuur	10
5.1	Grafische interface	10
6	<i>Unique selling proposition</i>	11
7	Mogelijkheden tot uitbreiding en verbetering	12
8	Conclusie	13

Inleiding

Vandaag de dag komen veel mensen in contact met HIV, de ziekte van Lyme en voedselallergenen. Een vaak gebruikte techniek om deze aandoeningen op te sporen, is de ELISA-test (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*). Het is een laboratoriumtest die gebruikt wordt voor het meten van macromoleculaire stoffen in bloedmonsters. Door, gebruik makend van een enzym als merker, een specifieke antigeen-antistofbinding aan te tonen in het bloed of andere lichaamsvloeistof van een mens of dier, kan de eventuele aanwezigheid van de aandoening vastgesteld worden.

De test verloopt in volgende stappen:

1. Men brengt het te bestuderen antigen aan in de *wells* van een *micro-wellplaat*.
2. Vervolgens wordt een oplossing met een niet-reagerend proteïne toegevoegd aan de wells zodat het volledige grondvlak van elke well bedekt is met vloeistof.
3. Het antilichaam met een geconjugeerd enzyme wordt in de wells gevoegd.
4. Een substraat voor het enzyme wordt toegevoegd.
5. De concentratie van het antilichaam wordt gemeten.

Deze test wordt elke dag gebruikt door de onderzoekers van het *Laboratory for Thrombosis Research* aan KU Leuven Campus Kulak Kortrijk. Er is echter een probleem bij de uitvoering van de test: wanneer de uitvoering van het proces niet geautomatiseerd is, neemt de ELISA-test veel handenarbeid en tijd in beslag. De *automatic microplate dispenser* kan hier een oplossing voor bieden. Deze machine is volledig geautomatiseerd en snel, waardoor een pak efficiënter kan gewerkt worden.

Het grote probleem met de *automated microplate dispensers* die momenteel op de markt zijn, is dat prijzen voor een tweedehandstoestel beginnen bij €1500 tot zelfs €8500. Het doel van dit project is dan ook om een machine te bouwen die hetzelfde doet als de apparaten die momenteel op de markt zijn, maar dan voor een wél acceptabele prijs.

Hoofdstuk 1

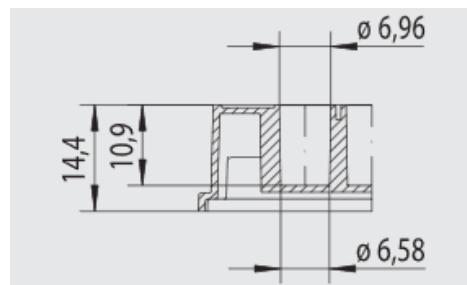
Klantenvereisten

De klant wil een geautomatiseerde *dispenser*. De *dispenser* moet in staat zijn om volledig autonoom een *microwell*-plaat te vullen met de te onderzoeken substantie. Dit proces moet foutloos gebeuren: in elke *microwell* moet exact evenveel substantie zitten en er mag niet naast de *microwells* gemorst worden. Bovendien moet dit alles kunnen in een tijd die aanzienlijk korter is dan wanneer men deze *microwell*-plaat handmatig zou vullen. Vooral dit laatste aspect is belangrijk, aangezien het handmatig vullen van de platen een zeer arbeidsintensief en tijdrovend onderdeel is van de ELISA-test. Het apparaat moet eenvoudig te bedienen zijn en de pipetpunten die de substantie in de *wells* spuiten, moeten vervangbaar zijn. Indien mogelijk kunnen ook al andere stappen, buiten het vullen van de *microwells* zelf, geautomatiseerd worden. Het automatisch aan-en afvoeren van *microwell*-platen kan het productieproces al veel versnellen. Er is een budget van €50 tot €75 voorzien.

Hoofdstuk 2

Ontwerpspecificaties

De te onderzoeken substantie bevindt zich in een recipiënt van waaruit het kan worden opgezogen. De *microwell*-plaat is 127.76 mm breed, 85.48 mm lang en 14.4 mm hoog. Er zitten 96 *microwells* in, met een bovendiameter van 6.96 mm en een benedendiameter van 6.58 mm (zie Figuur 2.1). Het werkvolume van elke *well* is tussen 25 μl en 340 μl . De middelpunten van de *wells* bevinden zich op 9 mm van elkaar. De middelpunten van de pipetpunten moeten dus op 9 mm van elkaar zitten en moeten verwijderbaar zijn. De machine moet elke *well* kunnen vullen met een hoeveelheid van 100 μl of 200 μl van de te onderzoeken substantie. Om de vloeistof niet te morsen naast de *wells*, moeten de pipetpunten telkens exact boven het middelpunt van de *well* de vloeistof lossen. Om het apparaat gebruiksvriendelijk te maken, moet een grafische interface voorzien worden. Zo kan de machine in enkele tellen opgestart worden en kunnen onderzoekers die de programmeertaal niet kennen de machine toch zonder probleem gebruiken.



Figuur 2.1: Afmetingen *microwell*

Hoofdstuk 3

Ontwerp

In dit hoofdstuk wordt het uiteindelijke concept toegelicht en uitgelegd waarom dit concept weerhouden is.

3.1 Werking

Het concept (zie Figuren 3.1 en 3.2) laat toe om zes *micowell*-platen in één keer te vullen. Er wordt gewerkt met twee pompen die de vloeistof oppompen uit het recipiënt waarin de te onderzoeken vloeistof zich bevindt. Op elke pomp is een buizennetwerk aangesloten. In elk buizennetwerk wordt de vloeistof verdeeld over uiteindelijk acht pipetpunten. De middelpunten van de pipetpunten bevinden zich telkens op een afstand van 9 mm van elkaar. De verdeling gebeurt door elke buis te splitsen in twee nieuwe buizen m.b.v. een T-verdeelstuk. De pipetpunten kunnen van de machine gehaald worden en zo gemakkelijk vervangen worden.

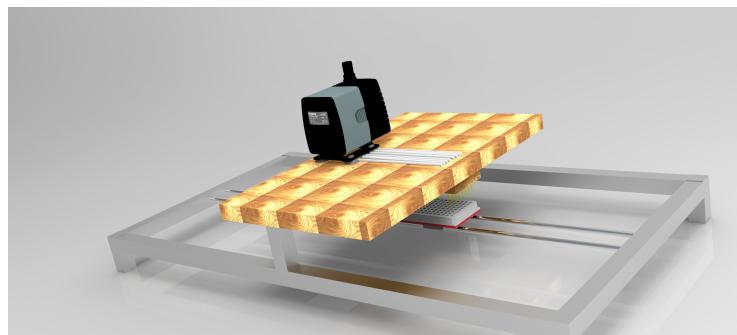
Alle onderdelen van de constructie zijn bevestigd aan het centrale chassis. Dit vormt de basis van de gehele constructie en bestaat uit 4 profielen die aan elkaar vasthangen. Het hierboven beschreven buizennetwerk wordt hierop vastgemaakt. De microplates worden op een transportplaat geplaatst. Op dit platform is plaats voorzien voor 6 microplates: deze worden in 2 rijen van 3 na elkaar gezet. Het platform is vastgemaakt aan een aandrijfriem en een motor en kan op die manier heen en weer bewegen. De motor hangt vast aan het chassis. De transportplaat wordt m.b.v. lagers verbonden aan 2 staven om zo heen en weer te bewegen. De lagers zijn gemonteerd op het chassis.

Het mechanisme om de microwells te vullen werkt als volgt: telkens wanneer een rij van acht *wells* gevuld is, stopt de pomp en verschuift de transportplaat. Daarna vult de pomp opnieuw acht *wells*. Dit proces wordt herhaald tot de twaalf rijen van acht *wells* gevuld zijn.

3.2 Voordelen ontwerp

We gebruiken slechts 8 pipetpunten en geen 12 of 96. Er werd beslist om geen 96 *wells* tegelijk te vullen omdat één enkele pomp niet genoeg zuigkracht genereert om zo'n grote hoeveelheid vloeistof te kunnen opzuigen. De reden dat we geen 12 *wells* tegelijk vullen is de volgende: wanneer we de vloeistof verdelen over

8 pipetpunten, kunnen we ervoor zorgen dat de vloeistof van het recipiënt tot aan elk van de 8 pipetpunten een gelijke afstand afglegt. Dit kan eenvoudig gerealiseerd worden door de buizen te verdelen m.b.v. T- of Y-verdeelstukken, wat bij 12 pipetpunten niet het geval is. Dit laatste zou ervoor kunnen zorgen dat er niet evenveel vloeistof in elke *well* komt, wat problemen oplevert bij het uitvoeren van de ELISA-test. Dit concept heeft ook als voordeel t.o.v. andere concepten die opgesteld werden dat er maar één bewegend onderdeel is. Hierdoor kan het aantal motoren beperkt worden. Een ander voordeel van dit concept is dat het relatief goedkoop is. Bij andere concepten die gemaakt werden, werd voorgesteld om met cilinders en zuigers te werken i.p.v. met een pomp. Deze onderdelen kosten per stuk echter even veel als het voorziene budget voor dit project. Door met een pomp te werken kan dit vermeden worden en wordt de kostprijs aanzienlijk gedrukt.



Figuur 3.1: CAD-model concept 3



Figuur 3.2: CAD-model concept 3

Hoofdstuk 4

Realisatie ontwerp

In dit hoofdstuk wordt uitgelegd hoe we het ontwerp dat in het vorige hoofdstuk toegelicht werd, gerealiseerd hebben. We bespreken de belangrijkste onderdelen we gebruikt hebben en leggen uit waarom precies voor deze onderdelen werd gekozen. Een overzicht van de aangekochte onderdelen is terug te vinden in het financieel verslag (zie appendix 8).

4.1 Chassis

Het chassis dient als basis voor het hele toestel. De belangrijkste vereisten voor dit onderdeel is dat het stevig en licht moet zijn. Om hieraan te voldoen, beslisten we om het chassis op te bouwen uit 4 aluminium profielen die aan elkaar gehangen worden.

4.2 Transportplaat

De transportplaat waarop de microplates worden geplaatst, laat toe om 6 microplates tegelijk te vullen. Om de microplates te kunnen vullen zonder vloeistof te morsen, is het noodzakelijk dat de microplates niet kunnen verschuiven tijdens het verplaatsen van de transportplaat. Om dit schuiven te vermijden, werden uit een dunne houten plaat (met dezelfde afmetingen als de transportplaat) 6 rechthoeken *gelasercut* met precies de afmetingen van een microplate. Dit geheel werd bevestigd op de transportplaat. Als materiaal voor de transportplaat kozen we voor waterafstotend MDF (*Medium-Density Fibreboard*). Dit materiaal heeft twee voordeelen. Ten eerste is het een licht materiaal, wat een relatief lage belasting voor de constructie betekent. Een tweede voordeel is dat de transportplaat niet zal rotten als de gebruiker van het apparaat één of andere vloeistof morst op de plaat, wat bij een gewone houten plaat wel het geval zou zijn.

De transportplaat kan via twee glijlagers verschuiven over 2 staven die aan het chassis bevestigd zijn.

AFBEELDING TRANSPORTPLAAT ZETTEN

4.3 Steppermotor

Als motor werd gekozen voor een steppermotor. Een steppermotor is een type motor dat werkt m.b.v. elektromagneten die de aandrijfas van de motor laten draaien. In de door ons gebruikte motor zitten in totaal 4 elektromagneten die afwisselend aan- en uitgezet worden door er een stroom door te sturen. Telkens male 1 van de 4 magneten wordt aangezet (dit is 1 stap), verdraait de aandrijfas waarop het magnetisch veld van de aangezette elektromagneet inwerkt volgens een vaste hoek¹. Het grote voordeel van dit type motoren is dat deze hoek zeer klein is: de as van de motor die wij gebruiken maakt per stap een verdraaiing van 1.8°. Hierdoor kunnen we de transportplaat die via een aandrijfriem aan de motor verbonden is met een zeer hoge nauwkeurigheid verplaatsen. Dit is van groot belang gezien de kleine afstand tussen 2 opeenvolgende rijen wells op de microplates.

4.4 Waterpomp

De gebruikte pompen zijn vacuümpompen. Deze zorgen ervoor dat wanneer de pomp niet actief is dat de vloeistof die nog in het buizennetwerk zit niet wegglekt via de pipetpunten. We kozen zoals eerder vermeld voor twee pompen die de twee buizennetwerken van vloeistof voorzien.

4.5 Microcontroller

Om aan de vereiste te voldoen dat de machine volledig automatisch de microplates kan vullen, moet het apparaat bestuurd worden via een microcontroller. Er werd gekozen voor een *Raspberry Pi*. Deze heeft verschillende voordelen t.o.v. andere microcontrollers. Ten eerste punt is het een relatief goedkope microcontroller. Dit was een belangrijk aspect gezien het budget dat vorhanden was. Ten tweede laat een Raspberry Pi toe om een HDMI-kabel en computermuis rechtstreeks aan te sluiten op de microcontroller. Dit laat toe om een grafische interface te implementeren die eenvoudigweg kan bediend worden via een scherm en computermuis die met de Raspberry Pi verbonden zijn. Een derde reden voor onze keuze is dat dit type microcontroller redelijk compact is in vergelijking met andere microcontrollers die te verkrijgen zijn. Tot slot werkt een Raspberry Pi met de programmeertaal *Python*. Dit had voor ons als voordeel dat we al konden werken met deze taal, wat niet het geval was met bijvoorbeeld een *Arduinomicrocontroller*.

¹Voor meer informatie i.v.m. steppermotoren verwijzen we naar https://en.wikipedia.org/wiki/Stepper_motor

Hoofdstuk 5

Programmeerstructuur

In dit hoofdstuk wordt uitgelegd hoe de programma's die de machine besturen werken.

5.1 Grafische interface

Hoofdstuk 6

Unique selling proposition

De gebouwde machine heeft heel wat potentieel. Hieronder vindt u enkele grote pluspunten die onze machine onderscheidt van toestellen die reeds op de markt zijn.

Prijs-kwaliteitverhouding Het grootste voordeel van ons toestel t.o.v. andere toestellen is ongetwijfeld de uitstekende prijs-kwaliteitverhouding. Ons toestel kost in totaal €BEDRAG (dit is weliswaar zonder werkuren te verrekenen), wat 5 tot 10 keer minder is dan de prijs van andere toestellen. De machine werkt precies en snel, precies wat er verwacht wordt van een dergelijk apparaat. Kortom: de prijs-kwaliteitverhouding is uitstekend.

Gebruiksgemak Doordat alles geautomatiseerd is, hoeft de gebruiker van het apparaat zeer weinig te doen om de microwellplaten te vullen. Men hoeft enkel het aantal te vullen platen en het volume per microwell te specifiëren en de microwellplaten op de transportband te plaatsen. Het ingeven van de aantallen en volumes kan heel snel en eenvoudig gebeuren via de voorziene grafische interface. De interface is zeer eenvoudig te bedienen via een scherm en computermuis.

Mobiliteit en stevigheid Tijdens het ontwerp en materiaalkeuze werd zo veel mogelijk rekening gehouden met de massa van het toestel. De gehele machine is gebouwd op een chassis uit aluminium om een stevige basis te bekomen. Het platform op het chassis werd vervaardigd uit hout om zo veel mogelijk gewicht te besparen. Dit levert een licht, maar stevig geheel op.

Vervangstukken De machine werd gemaakt uit onderdelen die gemakkelijk te vinden zijn in zowel winkels als op internet. Dit zorgt ervoor dat de gebruiker in het geval van een defect onderdeel snel kan geholpen worden en snel weer aan de slag kan.

Hoofdstuk 7

Mogelijkheden tot uitbreiding en verbetering

Om nog beter aan de wensen van de klant te voldoen, zijn er nog enkele zaken die na het einde van dit project zouden verbeterd kunnen worden.

Een eerste mogelijke verbetering is een mechanisme dat automatisch gevulde microplates van de transportplaat haalt en nieuwe microplates op de transportplaat plaatst. Nu moet de gebruiker van het apparaat dit zelf doen. Door ervoor te zorgen dat dit proces volledig geautomatiseerd wordt, kan het vullen van de microplates nog efficiënter gebeuren en moet de gebruiker minder zelf tussenkommen.

Ten tweede zou er een systeem kunnen voorzien worden dat automatisch een recipiënt onder de pipetpunten plaats om de machine te initialiseren. Nu moet dit manueel gebeuren.

Als derde zou een mogelijkheid kunnen voorzien worden die automatisch de pipetpunten kan vervangen indien dit de gebruiker dit wenst.

Hoofdstuk 8

Conclusie

Appendices

Handleiding toestel

Financieel verslag

In Tabel 8.1 staan de gemaakte aankopen vermeld.

Tabel 8.1: Aankopen

Item	Product	Prijs/stu
1	Staaf voor X- of Y-as glad 10 mm x 100 cm	4.75
2	SCS10UU lineaire kogellager	5.50
3	GT2 timing belt 6 mm (per meter)	4.50
4	GT2 Pulley hoge resolutie — 6 mm riem — 20 tanden — 5 mm as	6.00
5	Spanrol — gladde pulley hoge resolutie — 6 mm riem — 5 mm as	5.50
6	SHF10 as-bevestiging (2 stuks)	9.50
7	Aluminium profiel 2020 extrusion lengte 1 m (123-3D huismerk)	9.50
8	Aluminium hoekverbinding 2020 inclusief bevestigingsmateriaal (123-3D huismerk)	2.75
9	Hulpstukje 4 mm Luchtslang PE T-stuk 4 x 4 x 4 mm	0.20

Verantwoordelijkheden taakverdeling

De volledige opdracht werd verdeeld in volgende delen (met bijhorende verantwoordelijken):

- TEAMLEIDER: Seppe Vilain
- NOTULIST: Maxime Dujardin
- OPSTELLEN CAD-MODEL: Korneel Verkens
- MECHANISME OM PLATFORM MET *microwell*-PLATEN TE VERPLAATSEN:
Matthias Derez, Seppe Vilain
- POMPSYSTEEM: Maxime Dujardin, Korneel Verkens
- VERSLAG & PRESENTATIE: Matthias Derez, Maxime Dujardin, Korneel Verkens, Seppe Vilain

Vakintegratie

Om dit project tot een goed einde te kunnen brengen werden een aantal vakken uit semesters 1 t.e.m. 3 gebruikt:

Algemene Natuurkunde: Mechanica In het vak 'Mechanica' werden de basisbeginselen i.v.m. druk en stroming in dunne buizen bijgebracht. Deze kennis werd gebruikt bij het ontwerpen van het buizensysteem om de vloeistof te verdelen naar de acht microwells.

Beginselen van Programmeren De gebruikte programmeertaal voor de programma's die de machine gebruikt, is Python. In het vak 'Beginselen van Programmeren' werd deze taal geleerd.

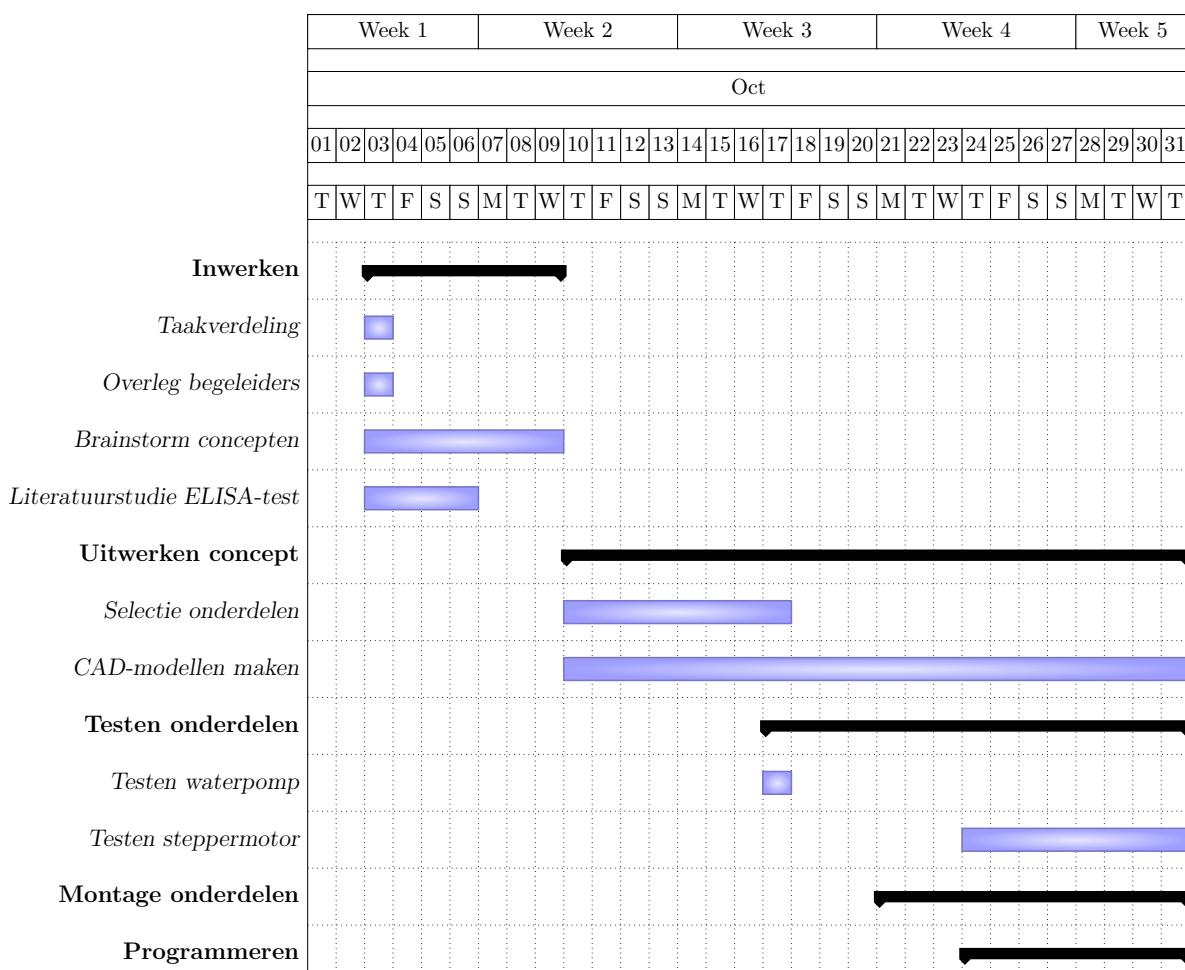
Probleemplossen & Ontwerpen, deel 2 Het CAD-model werd gemaakt met het programma 'Solid Edge'. In P&O 2 werd aangeleerd hoe hiermee te werken. Verder werd hier ook getoond hoe een Raspberry Pi microcontroller kan bestuurd worden vanaf een computer.

Algemene Natuurkunde: Elektromagnetisme en Informatieoverdracht en -verwerking & elektrische netwerken Deze vakken behandelen o.a. het maken en oplossen van elektrische circuits en overdracht van informatie, wat van pas kwam bij het maken van de connecties tussen de vacuümpomp, de steppermotor, de Raspberry Pi microcontroller, mosfet ... en de computer.

Planning

Gantt-grafiek

Op de volgende bladzijden vindt u een Gantt-grafiek van onze planning.



Week	Week 2					Week 3					Week 4																			
Dec																														
01 02 03 04 05 06 07 08 09 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20																														
S	M	T	W	T	F	S	S	M	T	W	T	F	S	S	M	T	W	T	F											
<i>Indienen eindverslag</i>																◆														
<i>Presentatie & demonstratie</i>																◆														
<i>Indienen peer assessment</i>																◆														

Vergaderverslagen

Op de volgende pagina's vindt u de vergaderverslagen van de teambijeenkomsten.

**Vergaderverslag 03/10/2019**

Academiejaar 2019 – 2020

Team ELISA

To do

- Taakverdeling
- Overleg met begeleiders
- Brainstorm eerste concept
- Literatuurstudie ELISA-test

Afgewerkt

- Taakverdeling gemaakt
- Eerste concept bedacht

Af te werken

Finnpipet® onderdelen vragen aan Charlotte Dekimpe

**Vergaderverslag 10/10/2019**

Academiejaar 2019 – 2020

Team ELISA

To do

- Concept herwerken
- Eerste onderdelen bestellen
- Info vragen aan Benjamin Maveau & Kevin Truyaert omtrent werking van bewegende onderdelen 3D-printer
- Eventueel beginnen aan klantenvereisten en ontwerpspecificaties voor verslag

Afgewerkt

- Nieuw ontwerp bedacht
- T-verdeelstukken klaar om te bestellen
- Pomp om vloeistof op te zuigen getest

Af te werken

- T-verdeelstukken bestellen

**Vergaderverslag 17/10/2019**

Academiejaar 2019 – 2020

Team ELISA

To do

- Model maken in Solid Edge
- Stepper motor testen
- Pomp testen (indien met t-stukken)
- Verslag schrijven

Afgewerkt

- Tussentijds verslag grotendeels afgewerkt, nog verantwoordelijkheidsstructuur etc. maken
- Bezig met testen van de motor
- T-stukken nog niet geleverd
- Model gemaakt in Solid Edge

Af te werken

**Vergaderverslag 24/10/2019**

Academiejaar 2019 – 2020

Team ELISA

To do

- Stepper motor verbinden en testen
- Verslag verder afwerken

Afgewerkt

- Moeilijkheden met de stepper motor
- Verslag grotendeels klaar, volgende week inleiding en Gantt-grafiek maken

Af te werken

**Vergaderverslag 31/10/2019**

Academiejaar 2019 – 2020

Team ELISA

To do

- Stepper motor verbinden en testen, poging 5
- Verslag verder afwerken en nalezen
- Waterpomp verbinden en testen

Afgewerkt

- Stepper motor werkt volledig
- Verslag is klaar
- T-stukken nog steeds niet geleverd

Af te werken

**Vergaderverslag 07/11/2019**

Academiejaar 2019 – 2020

Team ELISA

To do

- T-stukken zelf aangekocht, testen verdeling vloeistof
- Monteren platform om pomp en buizen op te leggen
- Aanpassen verslag

Afgewerkt

- Problemen met verdeling vloeistof, er wordt gezocht naar alternatieven om de verdeling te verwezenlijken
- Platform nog niet gemaakt, beslist om te wachten tot problemen met verdeling opgelost zijn
- Verslag gedeeltelijk aangepast

Af te werken



Vergaderverslag 14/11/2019

Academiejaar 2019 – 2020

Team ELISA

Update

Oorspronkelijk bestelde t-stukken zijn geleverd, machine werkt hier een stuk beter mee, vloeistof veel gelijkmatiger verdeeld

To do

- Machine optimaliseren
- Frame maken om pomp, printplaat en buisjes op te bevestigen
- Contact opnemen met Maaklab om transportplaat te vervaardigen

Afgewerkt

- Constructie boven om pomp aan te hangen gemaakt
- Twee stopknoppen geïmplementeerd
- Afstandssensor
- Extra motordriver

Af te werken

Contact opnemen met Maaklab

**Vergaderverslag 21/11/2019**

Academiejaar 2019 – 2020

Team ELISA

UpdateGrafische interface bijgewerkt naar 6 *microplates***To do**Constructie buizennetwerk en transportplaat *lasercutten* in Maaklab @Vives en monteren op constructie**Afgewerkt**

Constructie buizennetwerk en transportplaat in orde, wegens onvoorzien omstandigheden (zelf alles manueel moeten boren en zagen) nog niet kunnen monteren

Af te werken

- Eventueel monteren constructie buizennetwerk en transportplaat
- Financieel verslag updaten
- Naam bedenken voor de machine

**Vergaderverslag 28/11/2019**

Academiejaar 2019 – 2020

Team ELISA

Update

Box gemaakt

To do

- Monteren box
- Stopknoppen monteren
- Machine testen en verfijnen
- Verslag aanvullen

Afgewerkt

- Box gemonteerd
- Stopknoppen gemonteerd
- Machine getest en verfijnd
- Verslag aangevuld

Af te werken

KU Leuven Kulak
Wetenschap & Technologie
Etienne Sabbelaan 53, 8500 Kortrijk

