

How to make an automated microplate dispenser

Een zoektocht naar balans tussen precie-
sie, snelheid en betaalbaarheid

Team ELISA

Matthias Derez, Maxime Dujardin, Korneel Verkens, Seppe Vilain

Academiejaar 2019 – 2020

Inhoudsopgave

1 Klantenvereisten	4
2 Ontwerpspecificaties	5
3 Ontwerpen	6
3.1 Mogelijke concepts	6
3.1.1 Concept 1	6
3.1.2 Concept 2	7
3.1.3 Concept 3	8
3.2 Selectie concept	8
3.2.1 Voordelen	8
3.2.2 Selectie uiteindelijk ontwerp	9

Inleiding

Vandaag de dag komen veel mensen in contact met HIV, de ziekte van Lyme en voedselallergenen. Om deze aandoeningen op te sporen, kan de ELISA-test (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* [??web2019]) gebruikt worden. 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.

Beeld je in dat je een gedreven laborant bent die werkt met de ELISA-test en op zoek is naar de aandoening waaraan een patiënt lijdt. Je wil dan natuurlijk liefst zo veel mogelijk tijd en moeite steken in de analyse van de chemische stoffen en geen kostbare tijd verliezen aan het voortdurend handmatig titreren van de stoffen in de *microplate* zoals dit nu gebeurt in het *Laboratory for Thrombosis Research* aan Kulak. De *automatic microplate dispenser* is hiervoor de oplossing. Deze machine is snel en niet moe te maken, waardoor fouten uitgesloten worden. Mede door deze voordelen zal de *automatic microplate dispenser* op termijn niet meer weg te denken zijn uit moderne laboratoria en zal deze mee zijn stempel drukken op de vooruitgang van de geneeskunde. Het grote probleem aan de *automated microplate dispensers* die momenteel op de markt zijn, is dat prijzen voor een tweedehandstoestel beginnen bij €1500 à €8500 [??web]. Omdat dit veel geld is voor een machine die eigenlijk een relatief simpele handeling, besloten wij, studenten Ingenieurswetenschappen, zelf een machine te maken die hetzelfde doet als de apparaten die momenteel op de markt zijn, maar dan voor een wél acceptabele prijs.

Hoofdstuk 1

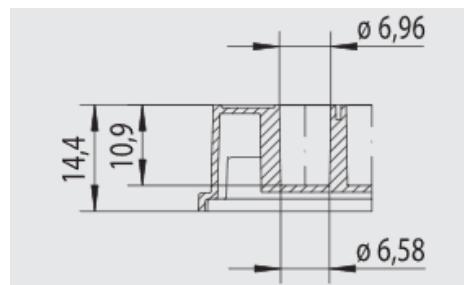
Klantenvereisten

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* sputten, 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 27.76 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*

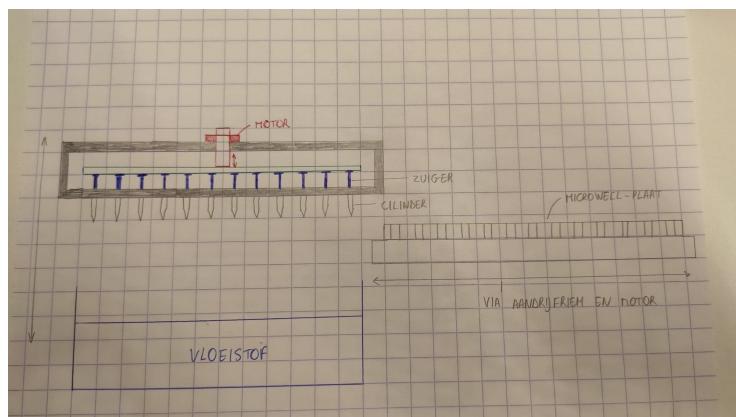
Hoofdstuk 3

Ontwerpen

3.1 Mogelijke concepts

3.1.1 Concept 1

Een eerste concept is gebaseerd op het principe van een handmatige *dispenser* die ter beschikking werd gesteld. In Figuur 3.1 staat een schets van het concept. De wells worden in dit concept in een keer gevuld door 96 cilinders. De cilinders zijn vastgemaakt aan een plaat in 12 rijen van 8. De afstand tussen de middelpunten van 2 cilinders is telkens 9 mm. De cilinders zelf bewegen niet. In elke cilinder zit een zuiger die op en neer kan bewegen. De koppen van de cilinders zijn vastgemaakt op een plaat die op en neer kan bewegen (zie Figuur 3.2) m.b.v. een motor die boven het geheel van de twee platen is bevestigd. Het geheel van de platen met de zuigers en cilinders kan op en neer bewegen om de vloeistof in de cilinders op te zuigen. De *micowell*-plaat is bevestigd aan een aandrijfriem met een motor zodat de plaat naar links en rechts kan bewegen. Dit laat het mechanisme toe om telkens de cilinders opnieuw te vullen en een gevulde *micowell*-plaat te vervangen door een lege.



Figuur 3.1: Schets concept 1

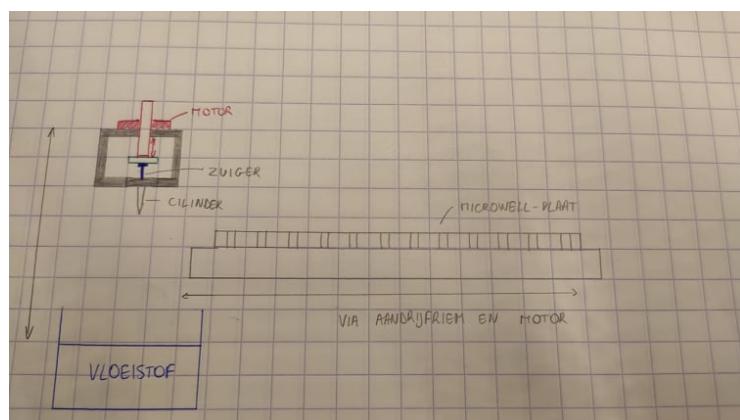


(a) Plaat aan de koppen van de zuigers om-(b) Plaat aan de koppen van de zuigers om-
hoog laag

Figuur 3.2: Voorstelling zuigmechanisme

3.1.2 Concept 2

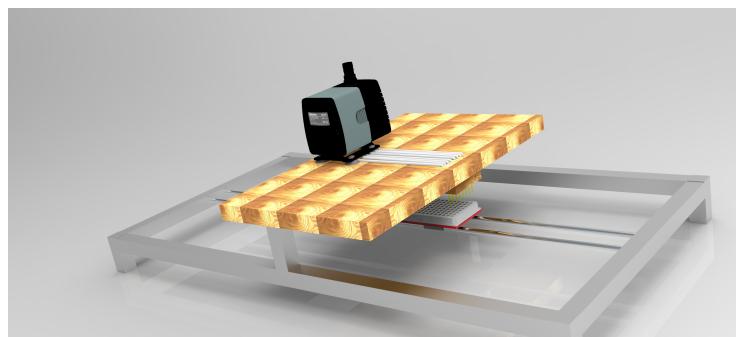
Het tweede concept is qua mechanisme om de *wells* te vullen gelijkaardig, alleen worden hier minder cilinders en zuigers gebruikt. In Figuur 3.3 staat een schets van het concept. Er worden acht cilinders naast elkaar vastgemaakt aan een plaat, met opnieuw een afstand van 9 mm tussen de middelpunten van twee aanliggende cilinders. De zuigers die in de cilinders zitten, worden op analoge manier bevestigd als in concept 1. In plaats van de *wells* in de plaat in een keer te vullen, gebeurt dit nu in twaalf stappen. Telkens wanneer een rij van acht *wells* gevuld is, schuift de *microwell*-plaat naar rechts, tot deze zich niet meer onder de zuigers bevindt, en beweegt het geheel met de zuigers en cilinders naar onder en weer naar boven om de cilinders opnieuw te vullen met vloeistof. Vervolgens schuift de *microwell*-plaat opnieuw naar links onder de cilinders en wordt de volgende rij van 8 *microwells* gevuld.



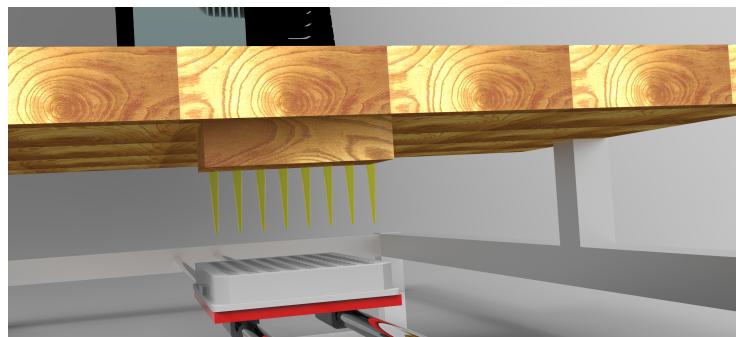
Figuur 3.3: Schets concept 2

3.1.3 Concept 3

Het derde concept is compleet verschillend van de eerste twee. In dit concept (zie Figuren 3.4 en 3.5) wordt gewerkt met een pomp die de vloeistof uit het recipiënt oppompt en via een buizennetwerk verdeelt over acht pipetpunten waarvan de middelpunten zich opnieuw op een afstand van 9 mm van elkaar bevinden. De afstand die de vloeistof aflegt van de pomp tot aan de uitgang van de pipetpunt is voor elk van de acht kanalen gelijk, wat belangrijk is om in elke *well* even veel vloeistof te hebben. De *microwell*-plaat wordt vastgemaakt aan een aandrijfriem en motor en kan op die manier verplaatst worden. Telkens wanneer een rij van acht *wells* gevuld is, stopt de pomp en verschuift de *microwell*-plaat 9 mm naar links. Daarna vult de pomp opnieuw acht *wells*. Dit proces wordt herhaald tot de twaalf rijen van acht *wells* gevuld zijn.



Figuur 3.4: CAD-model concept 3



Figuur 3.5: CAD-model concept 3

3.2 Selectie concept

In deze sectie worden per ontwerp de voordelen opgesomd en wordt de uiteindelijke keuze van een van de drie concepts toegelicht.

3.2.1 Voordelen

Concept 1

- Snelste optie, want alle 96 *wells* in één keer gevuld
- Uiterst precies, want er wordt gewerkt met vooraf geijkte cilinders zodat elke *well* exact even veel vloeistof krijgt

Concept 2

- Goedkoper dan concept 1
- Uiterst precies, want er wordt gewerkt met vooraf geijkte cilinders zodat elke *well* exact even veel vloeistof krijgt

Concept 3

- Sneller dan concept 2, want geen verticale bewegingen nodig
- Goedkoopste optie
- Eenvoudiger te maken dan concept 1 en 2, want geen bewegingen in twee dimensies nodig

3.2.2 Selectie uiteindelijk ontwerp

Uiteindelijk werd gekozen voor Concept 3. De doorslaggevende factor was hierbij de kostprijs. In het eerste en tweede concept kosten de gebruikte zuigers en cilinders per stuk evenveel als het voorziene budget voor de gehele machine. Aangezien deze niet nodig waren voor het derde concept, is dit veruit het goedkoopste effect. Doordat enkel de plaat horizontaal moet kunnen bewegen, hebben we maar een riem en een *steppermotor* voor dit ontwerp. Bij de eerste twee ontwerpen moet er ook verticale beweging zijn voor de zuigers. Hiervoor zijn een tweede riem en *steppermotor* nodig, wat het productieproces ingewikkelder en duurder maakt. De snelheid van concept drie is afhankelijk van hoe krachtig de pomp is. Wanneer deze voldoende snel de substantie kan opzuigen en sputten, zal dit concept zeker sneller zijn dan concept twee en amper trager dan concept een. Indien de pomp nauwkeurig genoeg is en er gewerkt wordt met precies even lange en dikke buizen, kan men ook exact de gevraagde hoeveelheid substantie in de *wells* spuiten.

Appendices

Financieel verslag

In Tabel 3.1 staan de gemaakte aankopen vermeld. VOOR DE VERZENDING WERD NOG EEN EXTRA BEDRAG VAN BETAALD.

Tabel 3.1: Aankopen

Item	Product	Prijs/stuk (€)
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 Dereza, Seppe Vilain
- POMPSYSTEEM: Maxime Dujardin, Korneel Verkens
- VERSLAG & PRESENTATIE: Matthias Dereza, 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.

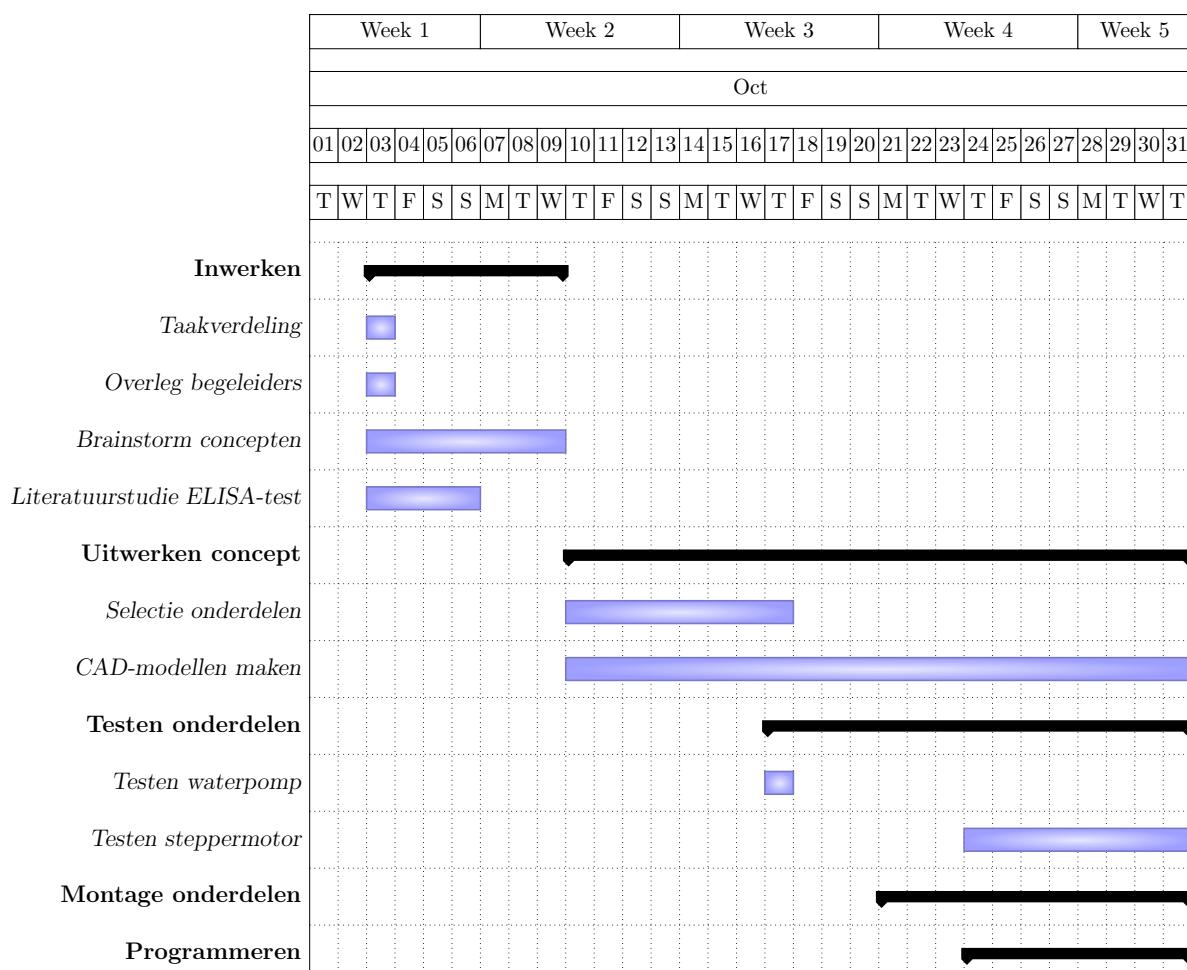
Probleemoplossen & Ontwerpen, deel 2 Het CAD-model werd gemaakt met het programma 'Solid Edge'. In P&O 2 werd aangeleerd hoe hiermee te werken. Verder werd hier ook getoond hoe een *Raspberry Pi microcontroller* kan bestuurd worden vanaf een computer.

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

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

Af te werken

Bibliografie

[??web] Microplate dispensers listings.

[??web2019] (2019). Elisa.

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

