

De *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

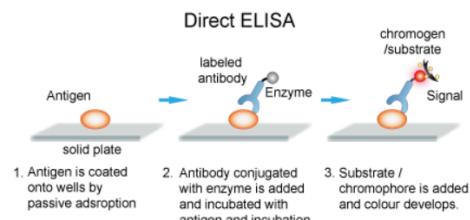
Inhoudsopgave

1	Klantenvereisten	6
2	Ontwerpspecificaties	7
3	<i>Concept</i>	8
3.1	Werking	8
3.2	Voordelen ontwerp	8
4	Realisatie ontwerp	11
4.1	Chassis	11
4.2	Transportplaat	11
4.3	Steppermotor	12
4.4	Waterpomp	13
4.5	Microcontroller	13
5	Programmeerstructuur	14
5.1	Grafische interface	14
5.2	Programmastructuur	14
6	<i>Unique selling proposition</i>	17
7	Mogelijkheden tot uitbreiding en verbetering	19
8	Conclusie	20

Inleiding

Vandaag de dag wordt heel wat wetenschappelijk onderzoek uitgevoerd in labo's. In veel gevallen wordt hierbij gewerkt volgens bepaalde methodieken. Een goed voorbeeld hiervan is de ELISA-test. De ELISA-test (*Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay*[1]) is een laboratoriumtest die gebruikt wordt voor het meten van macromoleculaire stoffen. Deze test heeft een zeer brede waaier van toepassingen. Zo kan hij onder andere gebruikt worden om HIV, de ziekte van Lyme en voedselallergenen op te sporen. Door, gebruik makend van een enzym als merker, een specifieke antigen-antistofbinding aan te tonen in het bloed of andere lichaamsvloeistof van een mens of dier, kan de eventuele aanwezigheid van de aandoening vastgesteld worden. Er zijn echter nog tal van andere toepassingen[2].

Er bestaan verschillende varianten van de test. De meest eenvoudige versie is de directe ELISA-test. Deze verloopt in volgende stappen (zie Figuur 1)[3]:



Figuur 1: Directe ELISA-test



Figuur 2: Microwellplaat

1. Men brengt het te bestuderen antigen aan in de *wells* van een *micro-*

*well*plaat (zie Figuur 2).

2. De plaatsen waar nog geen specifiek antigen gebonden is, worden bedekt met een niet-reagerend proteïne.
3. Het antilichaam met een geconjugeerd enzyme wordt in de wells gevoegd.
4. Een substraat voor het enzyme wordt toegevoegd.
5. Uiteindelijk zal er een kleurreactie plaatsvinden. Door hiervan de absorptie te meten, kunnen de nodige concentraties bepaald worden.

Andere varianten zijn de indirecte *sandwich* ELISA- en de competitieve inhibitie ELISA-test[4][5][6]. De ELISA-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 *automated microplate dispenser* kan hier een oplossing voor bieden. Deze machine is volledig geautomatiseerd en snel, waardoor efficiënter kan gewerkt worden.

Het grote probleem met de *automated microplate dispensers* die momenteel op de markt zijn (zie Figuur 3), is de hoge kostprijs. Zo kan een nieuw toestel €12000 tot €35000[7] kosten, voor een tweedehandstoestel €1500 tot €8500[8]. Het doel van dit project is dan ook om een machine te bouwen die dezelfde taken kan uitvoeren als de apparaten die momenteel op de markt zijn, maar dan voor een acceptabele prijs.



Figuur 3: Voorbeelden van automated microplate dispensers die op de markt zijn

Hoofdstuk 1

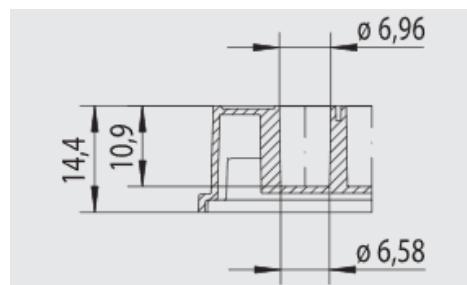
Klantenvereisten

Het laboratorium voor trombose-onderzoek 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 er uiteraard niet naast de *microwells* gespoten 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 microwellplaten 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 een afstand van 9 mm van elkaar liggen 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

Concept

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 met één druk op de startknop te vullen. Er wordt gewerkt met twee pompen die de vloeistof oppompen uit het recipiënt waarin de te onderzoeken substantie 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.

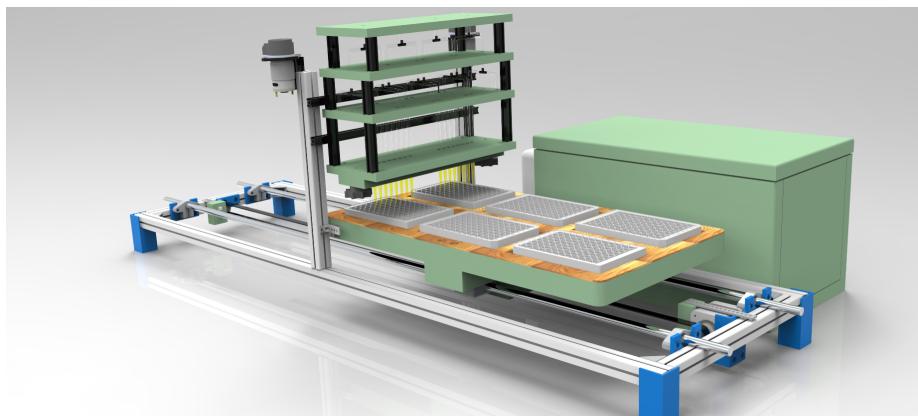
Alle onderdelen van de constructie zijn bevestigd aan het centrale chassis. Dit vormt de basis van de gehele constructie en bestaat uit 4 profielen die aan elkaar vasthangen. Het hierboven beschreven buizennetwerk wordt hierop vastgemaakt. De microplates worden op een transportplaat geplaatst. Op dit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

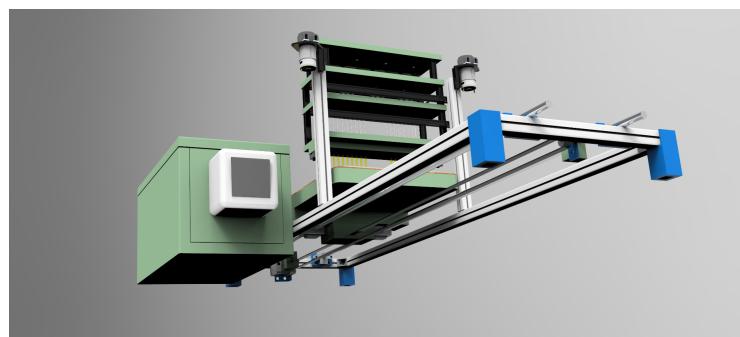
3.2 Voordelen ontwerp

We gebruiken slechts 8 pipetpunten en geen 12 of 96 (zie Figuur 3.3). 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 aflegt. Dit kan eenvoudig gerealiseerd worden door de buizen te splitsen 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 mogelijke concepten dat er maar één bewegend onderdeel is. Hierdoor kan het aantal motoren beperkt worden. Een ander voordeel is dat het relatief goedkoop is. Bij andere concepten die gemaakt werden, werd voorgesteld om met cilinders en zuigers te werken in plaats van 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 van onze automated microplate dispenser



Figuur 3.2: Onderaanzicht van onze automated microplate dispenser



Figuur 3.3: *Close up* van het buizensysteem

Hoofdstuk 4

Realisatie ontwerp

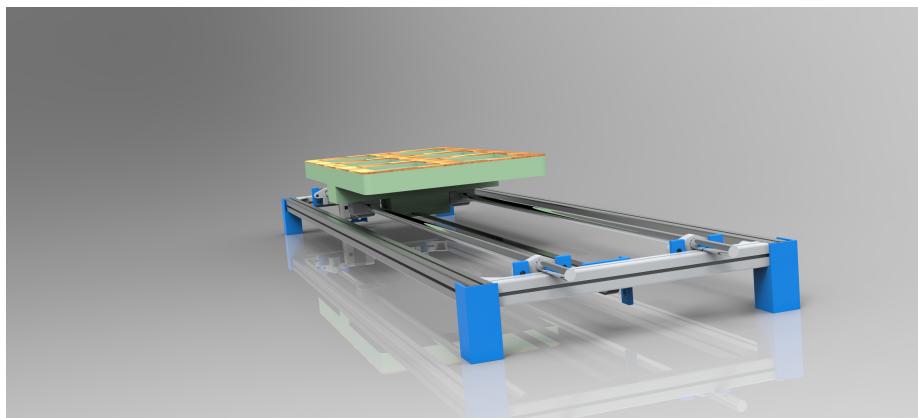
In dit hoofdstuk wordt uitgelegd hoe we het ontwerp dat in het vorige hoofdstuk toegelicht werd, gerealiseerd hebben. We bespreken de belangrijkste onderdelen die we gebruikt hebben en leggen uit waarom precies voor deze onderdelen werd gekozen. Een overzicht van de aangekochte onderdelen is terug te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

4.1 Chassis

Het chassis (zie Figuur 4.1) 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 bevestigd werden.

4.2 Transportplaat

De transportplaat (zie Figuur 4.1) waarop de microplates worden geplaatst, laat toe om 6 microplates tegelijk te vullen. Om te voorkomen dat er vloeistof naast



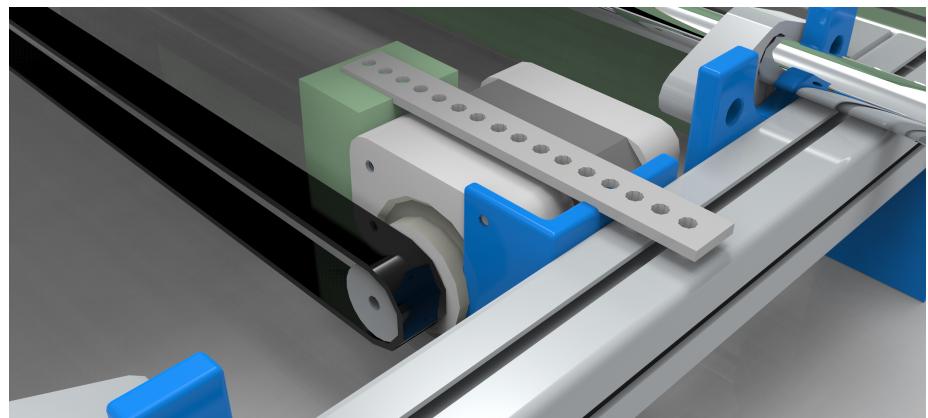
Figuur 4.1: Chassis en transportplaat van het toestel

de wells gespoten wordt, 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 Fibre-board*). 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 vergaan als er vloeistof op de plaat terechtkomt, wat bij een gewone houten plaat wel het geval zou zijn.

4.3 Steppermotor

Als motor werd gekozen voor een *steppermotor* (zie Figuur 4.2). 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 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 twee opeenvolgende rijen wells op de microplates.

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



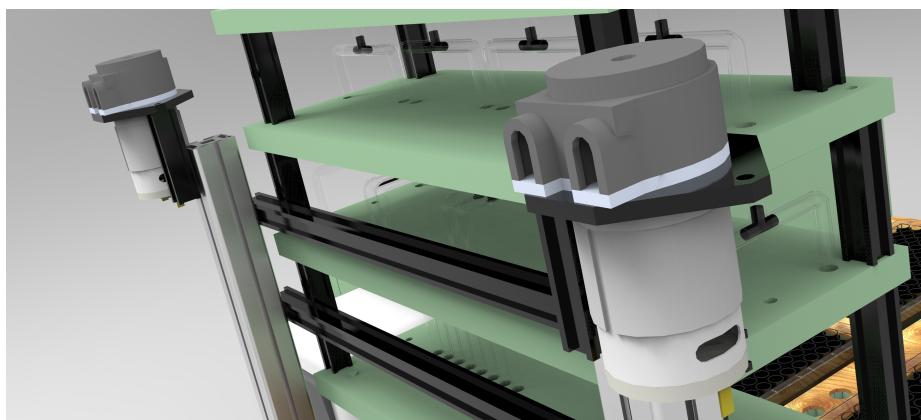
Figuur 4.2: Steppermotors op ons toestel

4.4 Waterpomp

De gebruikte pompen zijn vacuümpompen (zie Figuur 4.3). Deze zorgen ervoor dat wanneer de pomp niet actief is dat de vloeistof die nog in het buizennetwerk zit niet weglekt 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 (het elektrisch schema van het toestel vindt u in Appendix 8). Er werd gekozen voor een *Raspberry Pi*. Deze heeft verschillende voordelen t.o.v. andere microcontrollers. Ten eerste is het een relatief goedkope microcontroller. Dit was een belangrijk aspect gezien het budget dat voorhanden 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*.



Figuur 4.3: Waterpompen op ons toestel

Hoofdstuk 5

Programmeerstructuur

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

5.1 Grafische interface

Wanneer men de stekker van het toestel in het stopcontact plaatst en de schakelaar op 'Aan' zet, zal het scherm vanzelf opstarten en verschijnt de grafische interface (zie Figuur 5.2). In de grafische interface kan de gebruiker selecteren welke actie de machine moet uitvoeren. De mogelijkheden zijn: *initialize*, *cleanup*, *quit* en een of meerdere microplates vullen (zie figuur 5.2). Deze interface is in de programmeertaal *Python* geprogrammeerd.

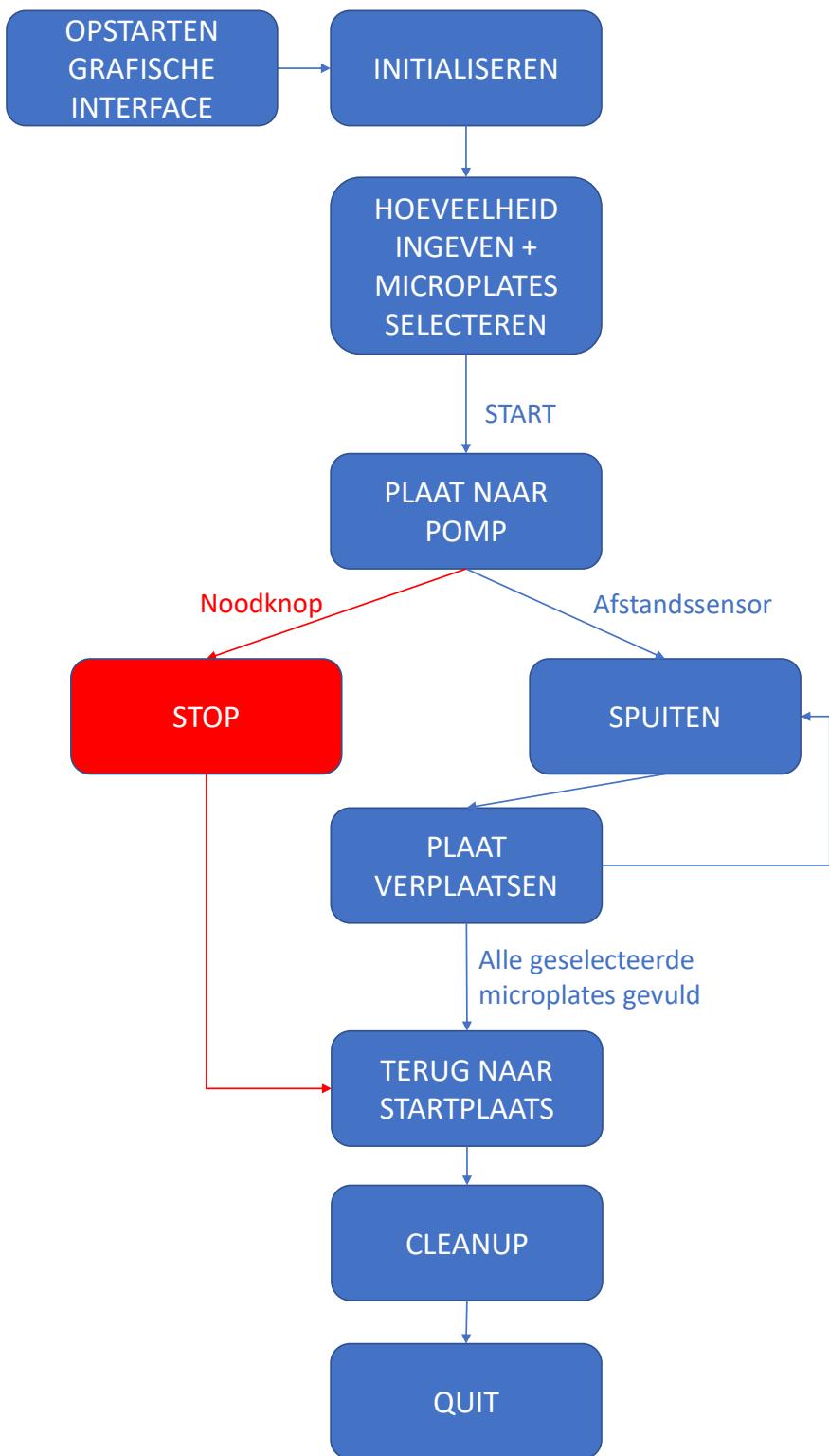
5.2 Programmastructuur

Om de machine zo autonoom mogelijk te laten werken, volgen we volgende programmastructuur (zie Figuur 5.1).

Initialize Eens de Raspberry Pi is opgestart, ziet men de grafische interface op het scherm. Alvorens de microplates gevuld kunnen worden, moeten de leidingen van het apparaat gevuld worden met de nodige substantie. Hiervoor kan men de knop 'INITIALIZE' selecteren (zie 'B' in Figuur 5.2). Men kan kiezen om maar één van de twee pompen of om beide te initialiseren (zie 'C' in Figuur 5.2).

Hoeveelheid ingeven + microplates selecteren Na het initialiseren, selecteert men de gewenste hoeveelheid vloeistof die in elke microwell moet komen (zie 'F' in Figuur 5.2) en welke microplates gevuld moeten worden (zie 'G' en 'H' in Figuur 5.2). Door de startknop (zie 'I' in Figuur 5.2) te selecteren, begint de machine met het uitvoeren van de gevraagde taken.

Plaat naar pomp De transportplaat beweegt vooruit, in de richting van de pipetpunten, tot een afstandssensor de plaat 'ziet' en een signaal doorgeeft aan de microcontroller. Daarna is er een afwisselend proces van een kleine



Figuur 5.1: Programmastructuur | 5.2. PROGRAMMASTRUCTUUR | 15

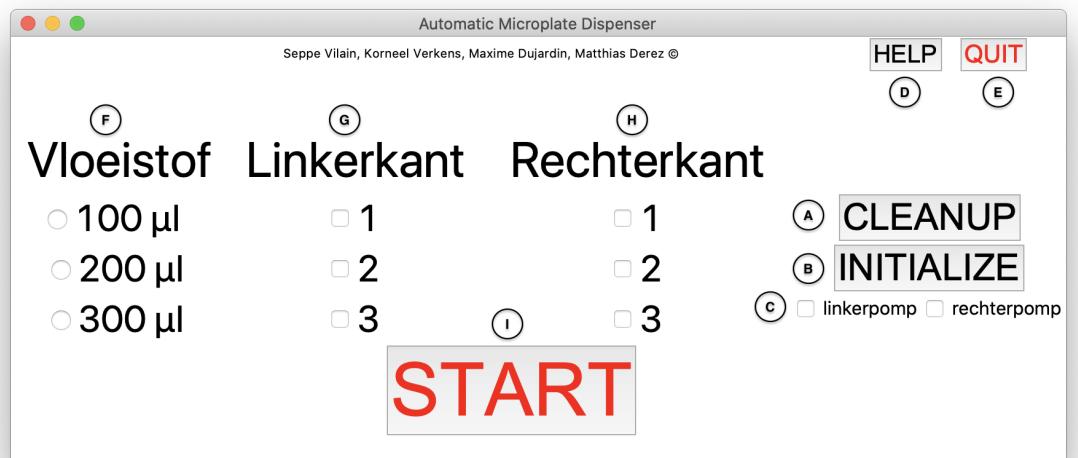
hoeveelheid vloeistof die in de wells wordt gepompt en een kleine verplaatsing van de transportplaat. Zo worden de rijen met wells van de microplate één voor één gevuld. Dit gaat door tot de wells van alle microplates gevuld zijn.

Noodstop Wanneer de afstandssensor echter geen signaal doorgeeft, zou de transportplaat rechtdoor blijven bewegen. Zo zou er schade kunnen ontstaan wanneer de plaat het einde van het chassis bereikt. Om dit te voorkomen is er een noodknop bevestigd aan de andere kant van het chassis. Wanneer deze wordt ingedrukt, stopt de transportplaat onmiddellijk met vooruitgaan en begeeft deze zich terug naar zijn startpositie.

Terug naar startplaats In beide gevallen, wanneer alle wells gevuld zijn of de noodknop ingedrukt wordt, begeeft de transportplaat zich uiteindelijk terug naar zijn startpositie. Hiervoor is er een andere drukknop bevestigd aan het chassis. Zo kan de transportplaat achteruit blijven bewegen, totdat deze drukknop wordt ingedrukt en de transportplaats dus terug op zijn startpositie staat.

Cleanup Wanneer men klaar is met het vullen van microplates, moet men de leidingen ledigen. Hiervoor kan men de functie 'CLEANUP' gebruiken (zie 'A' in Figuur 5.2).

Quit Om de microcontroller correct af te sluiten en zo schade te voorkomen, dient men de functie 'QUIT' te gebruiken (zie 'E' in Figuur 5.2)



Figuur 5.2: 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 €173.63 (dit is weliswaar zonder werkuren te verrekenen), wat 60 tot 200 keer minder is dan de prijs van andere toestellen.

Na testen blijkt echter dat ons apparaat niet precies genoeg de vloeistof kan verdelen over de microwells (we hebben dit bepaald door verschillende wegingen te doen van de vloeistof in de wells). Om deze reden kan het toestel niet gebruikt worden om de ELISA-test zelf uit te voeren. Het toestel kan wel gebruikt worden om de wells te wassen. Voor deze handeling is het immers minder van belang dat er in elke well precies even veel vloeistof terecht komt. Door alleen al dit deel van de test te automatiseren, kan al een stuk efficiënter gewerkt worden.

De machine werkt dus minder precies dan professionele toestellen, maar desalniettemin is de prijs-kwaliteitverhouding 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 specificeren 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. Er is een handleiding voorzien zodat de gebruiker snel aan de slag kan.

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 verkrijgen zijn. Dit zorgt ervoor dat de gebruiker in het geval van een defect onderdeel snel kan geholpen worden en direct 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 verbeterd kunnen worden.

Ten eerste wordt de vloeistof niet precies genoeg over de microwells verdeeld om de ELISA-test op een wetenschappelijk verantwoorde manier uit te voeren. We zouden de verdeling van de vloeistof preciezer kunnen maken door bijvoorbeeld het buizensysteem uit één stuk te fabriceren m.b.v. een 3D-printer. Op die manier kunnen eventuele lekken vermeden worden en hebben alle leidingen gegarandeerd exact dezelfde lengte en dezelfde diameter.

Ten tweede zou een optie kunnen voorzien worden die automatisch de pipetpunten vervangt indien dit de gebruiker dit wenst.

Ten derde zou er een systeem kunnen voorzien worden dat automatisch een recipiënt onder de pipetpunten plaatst om de machine te initialiseren. Nu moet dit manueel gebeuren. Daarnaast zou ervoor gezorgd kunnen worden dat wanneer men de buizen ledigt, de vloeistof terug vloeit naar de recipiënt waar het vandaan komt. Zo moet er geen afzonderlijk recipiënt onder de pipetten gehouden worden.

Een laatste 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.

Hoofdstuk 8

Conclusie

De automated microplate dispenser is een toestel dat het uitvoeren van de ELISA-test efficiënter maakt. Deze machine kan snel en autonoom een te onderzoeken substantie verdelen over verschillende microwells. Een groot probleem met de toestellen die op de markt zijn, is dat ze zeer duur zijn. Met het door ons gebouwde toestel kan men veel sneller microplates vullen dan wanneer men deze handmatig zou pipetteren en dat voor een relatief lage prijs. Het grote probleem met onze machine is echter de precisie. Waar een professioneel, duur toestel tot op de microliter precies de substantie in de wells kan sputten, is ons toestel niet nauwkeurig genoeg om de ELISA-test op een wetenschappelijk verantwoorde manier uit te voeren. Dit is niet geheel onlogisch, aangezien één van de redenen waarom deze toestellen zo duur zijn, net is omdat ze zo precies geijkt zijn. Met het budget en de tijd die wij ter beschikking hadden, konden we dit jammer genoeg niet realiseren. Ons toestel kan echter wel gebruikt worden om de microplates te wassen. Door alleen dit onderdeel van de ELISA-test al te automatiseren, kan in labo's heel wat tijd bespaard worden.

Bibliografie

- [1] Rudolf M Lequin. Enzyme immunoassay (eia)/enzyme-linked immunosorbent assay (elisa). *Clinical chemistry*, 51(12):2415–2418, 2005.
- [2] Rob Reed, David Holmes, Jonathan Weyers, and Allan Jones. Practical skills in biomolecular sciences 4th edition pdf.
- [3] Jason Kelly. <http://jasonkellyphoto.co>.
- [4] Suryakant K Nitre and Aditi Pant. Purification and biochemical characterization of polygalacturonase ii produced in semi-solid medium by a strain of fusarium moniliforme. *Microbiological Research*, 159(3):322–328, 2004.
- [5] John R Crowther. Methods in molecular biology, vol. 42-elisa: Theory and practice. *Methods in Molecular Biology*, 1995.
- [6] ED Harlow, David Lane, et al. A laboratory manual. *New York: Cold Spring Harbor Laboratory*, 579:553–612, 1988.
- [7] BioSPX. Informatie verkregen via medewerker biospx.
- [8] LabX. Microplate dispensers listings. <https://www.labx.com/microplate-dispensers/>.

Appendices

Handleiding toestel

Handleiding *automated microplate dispenser*

Team ELISA

Matthias Derez, Maxime Dujardin, Korneel Verkens, Seppe Vilain

Academiejaar 2019 – 2020

Voorwoord

Dit is de handleiding voor de *automated microplate dispenser* die door Team ELISA gebouwd werd tijdens het vak 'Probleemoplossen en ontwerpen, deel 3'. In deze handleiding wordt in detail beschreven hoe men de machine moet installeren en gebruiken. Verder worden ook oplossingen uitgelegd voor mogelijke problemen die kunnen opduiken bij het gebruik van de machine.

Installatie

Hardware

Het apparaat wordt bediend via een computerscherm en -muis. Het computerscherm wordt via een HDMI-kabel verbonden met de microcontroller in de groene box zoals aangegeven op Figuur 1. De computermuis wordt verbonden via de USB-aansluiting zoals weergegeven in Figuur 2. Wanneer het scherm en de muis verbonden zijn met de microcontroller zullen deze automatisch verbinding maken. Het is aan te raden deze aangesloten te laten, om te vermijden dat er bedrading los komt en om slijtage aan het toestel te voorkomen.

De zwarte stekker in Figuur 7 die uit de groene box komt dient men in een wandcontactdoos te stoppen.

Vloeistof

Vooraleer men het toestel opstart, dient men de te gebruiken vloeistof klaar te hebben staan. Er kunnen twee verschillende soorten vloeistof gebruikt worden: men kan namelijk de linkse rij *microplates* vullen met een andere vloeistof dan de rechtse rij. Aan de linker- en rechterkant van het apparaat hangen twee zwarte pompen, deze zijn gelabeld als 'Pomp Links' en 'Pomp Rechts' (zie Figuren 4 en 5). Aan beide pompen hangt een plastic leiding bevestigd wiens uiteinden (zie Figuur 6) zich aan de rechterkant van de machine bevinden. Indien men ervoor kiest om één vloeistof te gebruiken, plaatst men de uiteinden van beide leidingen in dezelfde erlenmeyer. Indien met twee vloeistoffen wil gewerkt worden, plaatst men beide uiteinden in twee verschillende erlenmeyers.



Figuur 1: Aansluiting HDMI-kabel scherm



Figuur 2: Aansluiting USB-kabel muis



Figuur 3: Zwarde stekker

Wanneer vorige stappen correct uitgevoerd zijn, is het toestel klaar voor gebruik.



Figuur 4: Linkerpomp



Figuur 5: Rechterpomp



Figuur 6: Uiteinde leiding



Figuur 7: Zwarde stekker

Opstarten

Opstarten van de microcontroller

Om de automatic microplate dispenser op te starten, plaatst men de stekker in een wandcontactdoos en brengt men de schakelaar aan de groene box in de 'Aan'-positie (zie Figuur 8, zorg er zeker voor dat het scherm en de muis verbonden zijn aan de microcontroller zoals beschreven in).

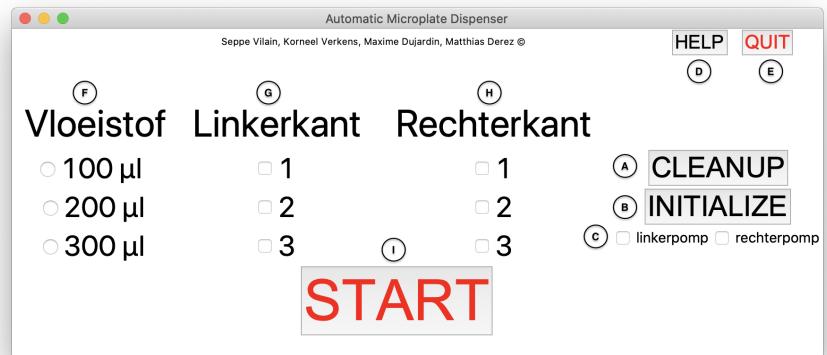


Figuur 8: Schakelaar in 'Aan'-positie

Vervolgens wacht men enkele ogenblikken tot het startscherm van de automatic microplate dispenser verschijnt op het computerscherm. Vooraleer dit zal gebeuren, verschijnt er witte code op het zwarte scherm, dit is volledig normaal. Dit kan enkele ogenblikken duren. De microcontroller is volledig opgestart op het moment dat de grafische interface (zie Figuur 9) op het scherm komt.

Opstarten van de machine

Vervolgens moet de machine geïnitialiseerd worden: de leidingen van het toestel worden hierbij gevuld met de vloeistof uit de erlenmeyers. Om dit te doen klikt vinkt men aan welke pompen geïnitialiseerd moeten worden (zie 'C' in Figuur 11) en vervolgens op de knop 'INITIALIZE' (zie 'B' in Figuur 11). Men kan kiezen om maar één van de twee pompen te initialiseren of om beide te



Figuur 9: Grafische interface

initialiseren. Tijdens het initialiseren is het zeer waarschijnlijk dat er vloeistof uit de pipetpunten (zie Figuur 10) komt, het is dan ook aangeraden om een recipiënt onder de pipetpunten te plaatsen waarin deze vloeistof kan worden opgevangen.

Eens het toestel geïnitialiseerd is, is hij klaar voor gebruik.



Figuur 10: Pipetpunten

Uitvoeren test

Nu de machine klaar volledig klaar is, kan men de ELISA-test uitvoeren.

Men onderneemt hiervoor volgende stappen (de werkwijze wordt geïllustreerd via Figuur 11):

1. Selecteer de gewenste hoeveelheid vloeistof die in elke *microwell* dient terecht te komen. Vink hiervoor 100 μl , 200 μl of 300 μl aan (zie 'F'). Let op: het is niet mogelijk om voor elke microplate een andere hoeveelheid te selecteren. Indien men dit vergeet te doen en de machine probeert te starten, zal een foutmelding op het scherm verschijnen.
2. Selecteer op welke plaatsen microplates staan die gevuld moeten worden. Dit doet men door de nodige posities in 'G' en 'H' aan te vinken. Het is aan te raden om de te vullen microplates op zo laag mogelijke posities te plaatsen: op die manier zal het vullen van de microplates minder tijd in beslag nemen. Verifieer vooraleer op 'START' te klikken dat de microplates op de juiste posities staan.
3. Klik op 'START' (zie 'I').

Afsluiten

Afsluiten van de machine

Om het apparaat af te sluiten moet men enkele stappen overlopen. Eerst en vooral is het noodzakelijk om de resterende vloeistof in de leidingen te verwijderen. Hiervoor klikt men op de knop 'CLEANUP' (zie 'A' in Figuur 11). Alvorens dit te doen, dient men de uiteinden van de leidingen uit de erlenmeyer met de te onderzoeken vloeistof te halen (anders wordt er opnieuw vloeistof in de leidingen gezogen).

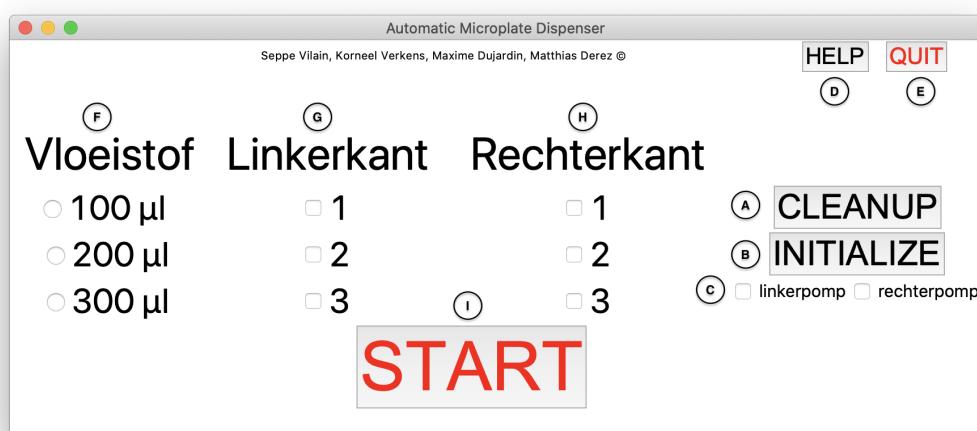
Ook hier is het aan te raden om een recipiënt onder de pipetpunten te plaatsen, zodat de resterende vloeistof kan opgevangen worden. In de volgende stap wordt uitgelegd hoe de microcontroller uitgeschakeld kan worden.

Afsluiten van de microcontroller

Het apparaat afsluiten doet men door op de knop 'QUIT' te klikken (zie 'E' in Figuur 11). Het enige wat nog moet gebeuren is de machine afsluiten van de netstroom, dit doet men door de schakelaar 8 op 'Uit' te zetten (zie Figuur 8). Als men het toestel wil verplaatsen, moet de stekker 7 ook verwijderd worden uit de wandcontactdoos.

Grafische interface

Hierna vindt nog een overzicht van de functies in de grafische interface.



Figuur 11: Grafische interface

- A Deze knop zorgt voor de *cleanup* van het toestel. De methode om de leidingen te reinigen staat beschreven in .
- B Met deze knop wordt het apparaat geïnitialiseerd. Een beschrijving hiervan staat in .
- C Hier kunnen de pompen geselecteerd worden die een bepaalde opdracht (initialisatie of cleanup) moeten uitvoeren. Men kan ofwel de linker- ofwel de rechterpomp ofwel beide pompen selecteren.
- D Deze functie geeft kort weer hoe de machine kan opgestart worden.
- E Door op deze knop te klikken kan de automated microplate dispenser afgesloten worden.
- F Men kiest de hoeveelheid vloeistof per microwell door de juiste hoeveelheid aan te vinken.

- G Hier kiest men op welke posities van de linkerkant van de transportplaat microplates geplaatst zijn die gevuld moeten worden.
- H Hier kiest men op welke posities van de rechterkant van de transportplaat microplates geplaatst zijn die gevuld moeten worden.
- I Dit is de knop die het initialiseren, cleanup en vullen van de microplates start.

Mogelijke problemen

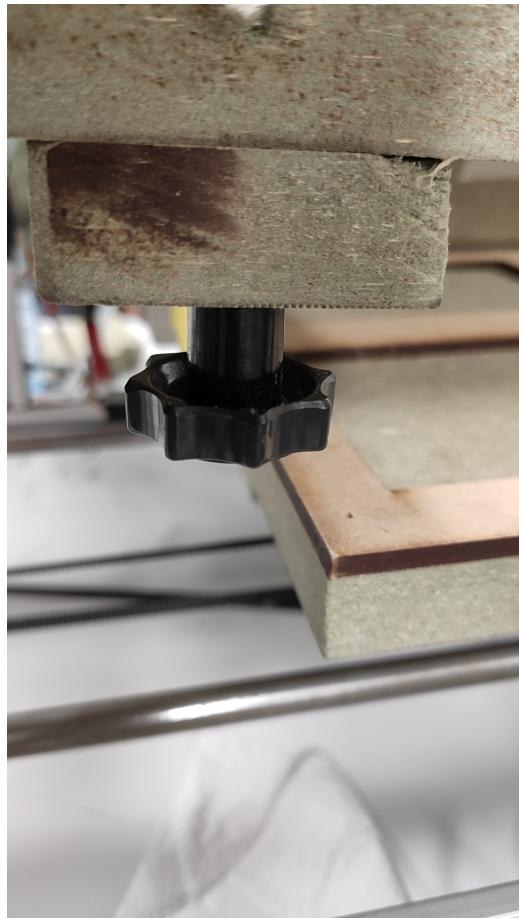
In deze paragraaf worden mogelijke problemen opgesomd met oplossingen.

1. Het kan zijn dat er bij het einde van het initialiseren nog geen vloeistof uit alle pipetpunten komt. Wanneer dit voorvalt, kan men het toestel gewoon opnieuw initialiseren zoals eerder beschreven.
2. Hetzelfde kan voorvallen bij de cleanup: het kan zijn dat bij het einde van de cleanup nog niet alle vloeistof uit de leidingen is. Dit kan opgelost worden door de cleanup opnieuw uit te voeren.
3. Wanneer de transportplaat bij het verplaatsen ergens hapert, dient men het toestel onmiddellijk uit te zetten. Vervolgens moet gekeken worden of er geen onzuiverheden tussen de lagers en de staven zitten. Indien dit het geval is, maak dan de staven schoon.
4. Indien het toestel niet wil opstarten, controleer dan of de schakelaar van het toestel in de 'Aan'-positie staat en de stekker in het stopcontact zit.

Onderhoud

Pipetpunten vervangen

De pipetpunten kunnen vervangen worden door de zwarte handschroeven (zie Figuur 12) los te draaien. Vervolgens haalt men de huidige pipetpunten van het toestel en plaatst men de nieuwe pipetpunten op het toestel. Tot slot worden de handscreven terug aangedraaid.



Figuur 12: Handschroef

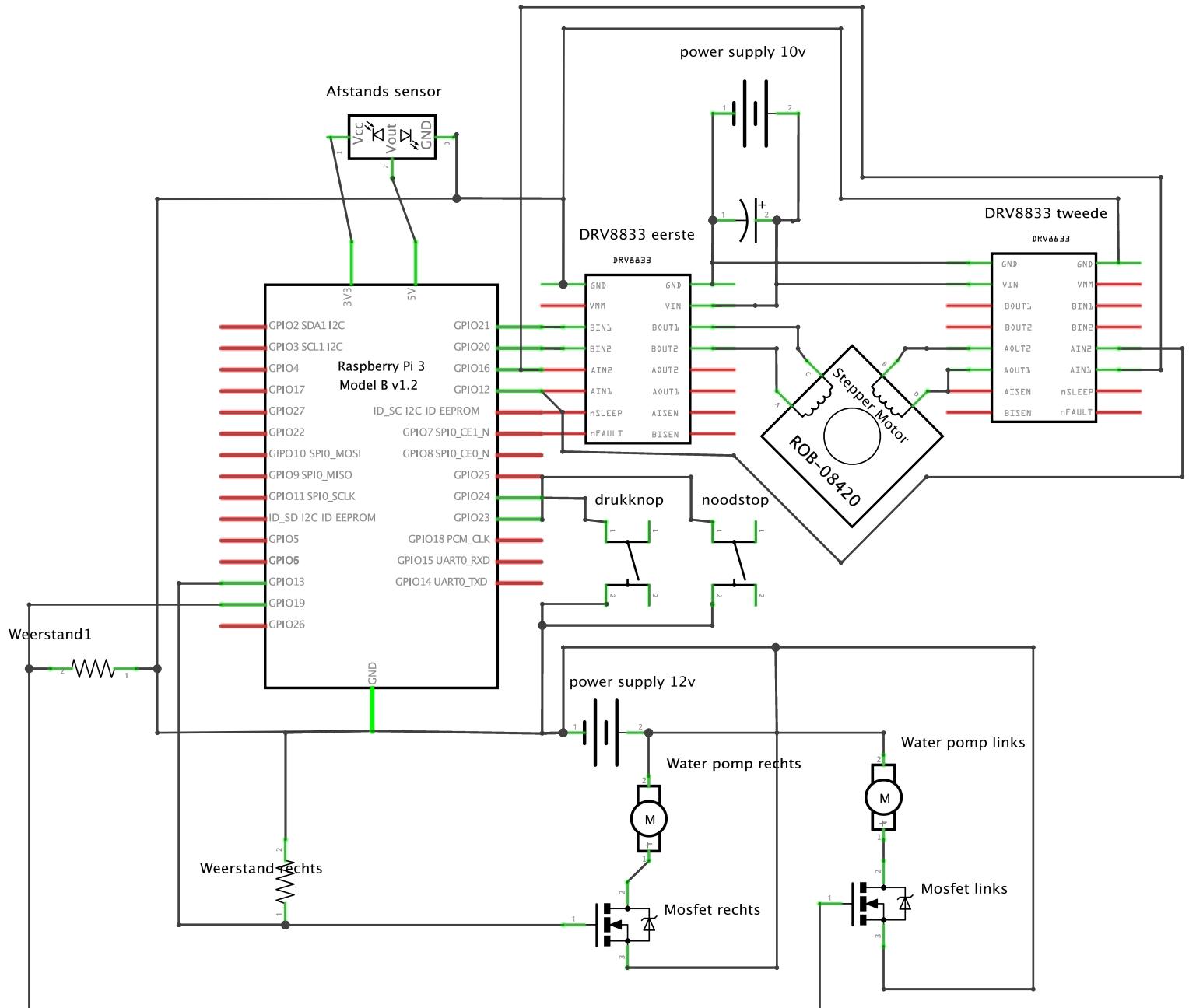
Leidingen reinigen

De leidingen kunnen gereinigd worden door de uiteinden van de leidingen in een recipiënt met water te plaatsen. Vervolgens klikt men op de knop 'INITIALIZE' en vervolgens op de knop 'CLEANUP' op de grafische interface. Zorg er zeker voor dat er een recipiënt onder de pipetpunten staat.

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



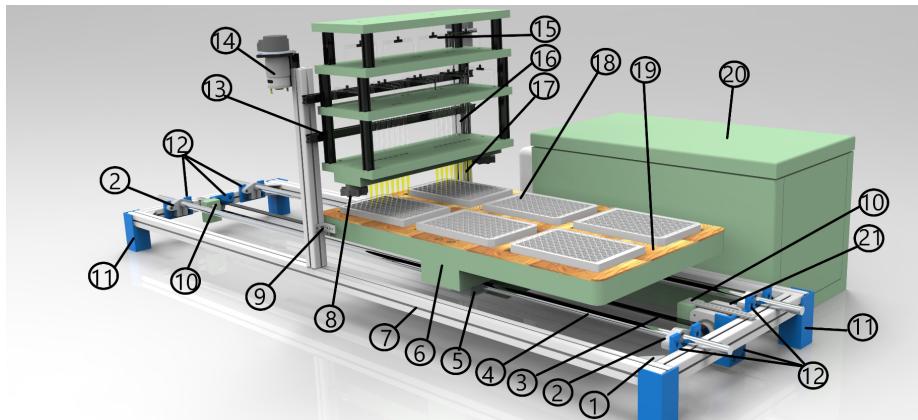
Elektrisch schema



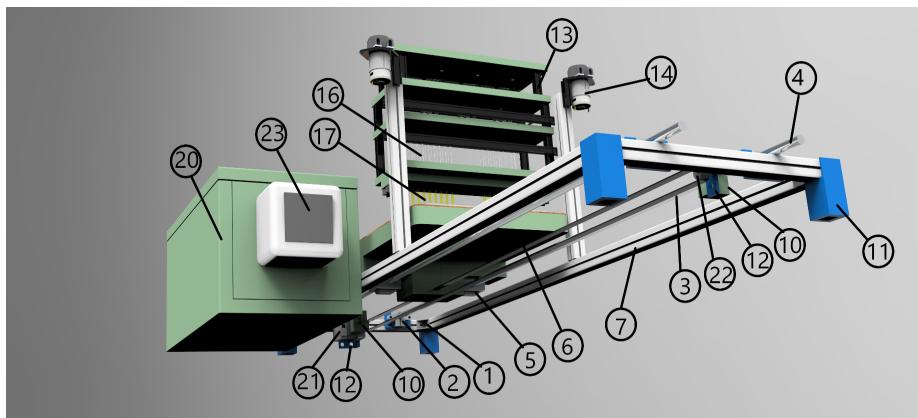
fritzing

Financieel verslag

In Tabel 8.1 staat een stuklijst met de gemaakte aankopen vermeld (de verschillende onderdelen vindt u in Figuren 8.1 en 8.2).



Figuur 8.1: CAD-model bovenkant met nummer stuklijst



Figuur 8.2: CAD-model onderkant met nummer stuklijst

Tabel 8.1: Aankopen

Item	Product	Prijs/stuk (€)	Aantal	Totaal (€)
1	Aluminium hoekverbinding 2020 inclusief bevestigingsmateriaal (123-3D huismerk)	2.75	4	11.00
2	SHF10 as-bevestiging (2 stuks)	9.50	2	19.00
3	GT2 timing belt 6 mm (per meter)	4.50	2	9.00
4	Staaf voor X- of Y-as glad 10 mm x 100 cm	4.75	2	9.50
5	SCS10UU lineaire kogellager	5.50	2	11.00
6	Waterafstotend MDF 2 m ² 18 mm	19.99	1	19.99
7	Aluminium profiel 2020 extrusie lengte 1 m	9.50	3	28.50
8	R&D-kosten	onbekend		
9	R&D-kosten	onbekend		
10	R&D-kosten	onbekend		onbekend
11	R&D-kosten	onbekend		onbekend
12	R&D-kosten	onbekend		onbekend
13	R&D-kosten	onbekend		onbekend
14	Waterpomp	onbekend	2	onbekend
15	Hulpstukje 4 mm Luchtslang PE T-stuk 4 x 4 x 4 mm	0.20	15	3.00
16	Leidingen (m)	0.40	4	1.60
17	Pipetpunten (zelf te voorzien)			
18	Microplate (zelf te voorzien)			
19	MDF-plaat	onbekend		onbekend
20	Zie onderdeel 6			
21	Stepper motor 42BYGHW811 NEMA-17 Bipolar 48mm	17.95	1	17.95
22	Spanrol — gladde pulley hoge resolutie — 6 mm riem — 5 mm as	5.50	1	5.50
23	Schakelaar	onbekend	1	onbekend
24	GT2 Pulley hoge resolutie — 6 mm riem — 20 tanden — 5 mm as	6.00	1	6.00
25	RASPBERRY PI 3 - MODEL B - 1GB	31.59	1	31.59
Totaal				173.63

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.

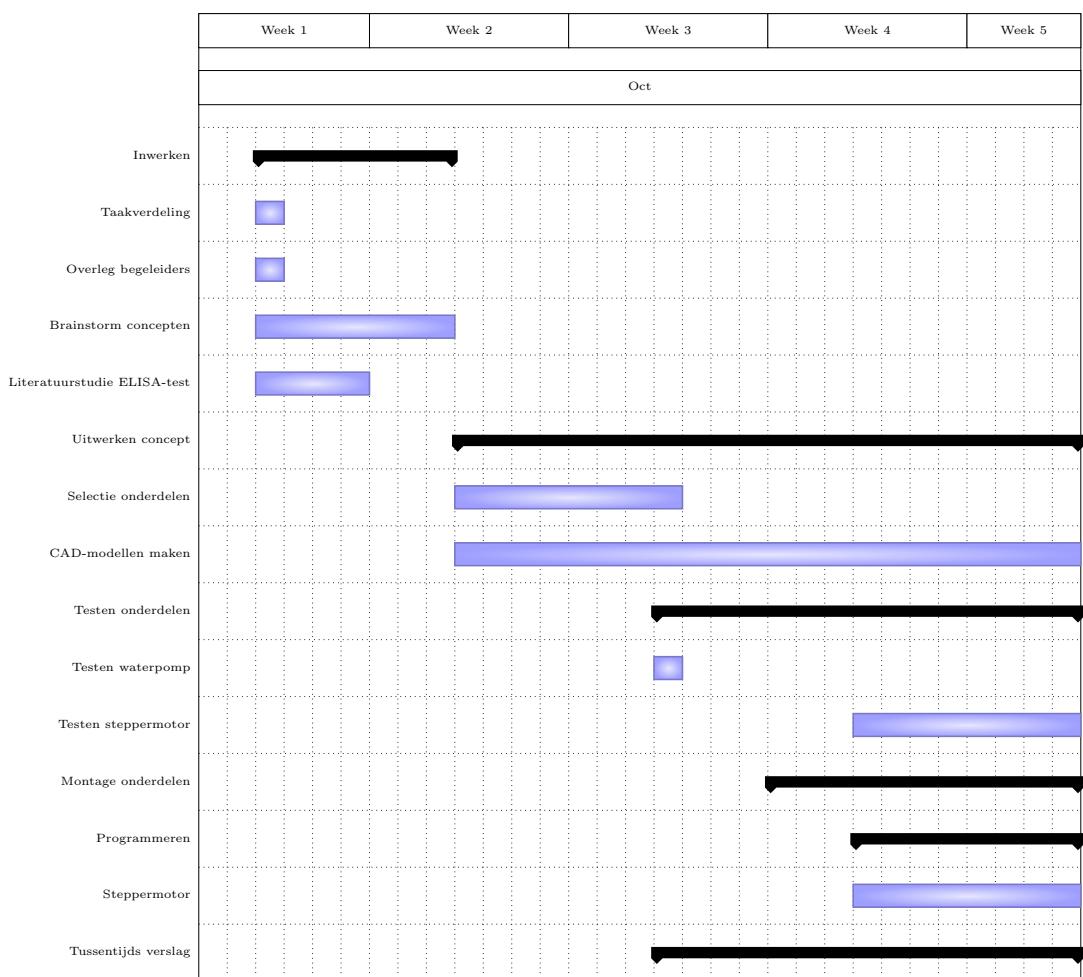
Probleemplossen & Ontwerpen, deel 2 Het CAD-model werd gemaakt met het programma 'Solid Edge'. In P&O 2 werd aangeleerd hoe hiermee te werken. Verder werd hier ook getoond hoe een Raspberry Pi microcontroller kan bestuurd worden vanaf een computer.

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 1	Week 2	Week 3	Week 4	Week 5
Nov					
Indienen tussentijds verslag	◆				
Indienen <i>peer assessment</i>	◆				
Montage onderdelen	██████████				
Programmeren	██████████				
Steppermotor	██████████				
Waterpomp	██████████				

Week	Week 2	Week 3	Week 4
Dec			
Indienen eindverslag			◆
Presentatie & demonstratie			◆
Indienen <i>peer assessment</i>			◆

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

