

基于超声电机的细胞微操作台设计与实验研究

吴必成,姚志远,张亚飞

(南京航空航天大学 机械结构力学及控制国家重点实验室,江苏 南京 210016)

摘要:针对生物医学工程对微/纳操作手的需求,提出了一种能够实现对微小细胞进行多重操作的微操作台。该平台由三自由度精密定位仪、负压驱动部件(V型直线超声电机、注射器和硅胶软管)和玻璃基纳米通孔构成。定位仪的定位精度为 $1\ \mu\text{m}$,操作简便,定位效率高。利用负压驱动部件的V型直线超声电机产生吸附力,可以精确地吸附并控制特定的生物细胞。玻璃基纳米通孔的外径小于 $\varnothing 50\ \mu\text{m}$,可以操作更微小的生物细胞。该平台首次采用自主设计制造的V型直线超声电机和玻璃基纳米通孔作为关键部件。生物细胞操作实验表明,此操作台最终实现了对生物细胞的定位、吸附、释放和移动等操作,所操作的细胞大小在 $20\ \mu\text{m}$ 以内。

关键词:微纳操作;直线超声电机;纳米通孔;生物技术;细胞

中图分类号:TM359.9;TH12 **文献标识码:**A

Design and Experimental Study of the Micro Operation Platform for Cells Based on the Ultrasonic Motor

WU Bicheng, YAO Zhiyuan, ZHANG Yafei

(State Key Lab. of Mechanical Structure Mechanics and Control, Nanjing University of Aeronautics and Astronautics, Nanjing 210016, China)

Abstract: For the demand of micro/nano manipulator in the biomedical engineering, a kind of micro-operation platform which can perform multiple operations on the biological tiny cells is proposed in this paper. The platform is consists of a 3-DOF precision positioning instrument, negative pressure drive unit (the V type linear ultrasonic motor, syringe and silicone hose) and the nanometer through hole based on glass. The accuracy of the positioning instrument is $1\ \mu\text{m}$, the instrument is easy to operate and has high positioning efficiency. The specific biological cells can be adsorbed and controlled precisely by the absorption force which is generated in the negative pressure drive unit. The external diameter of the nanometer through hole is less than $50\ \mu\text{m}$ which can operate on more tiny biological cells. The independently designed and manufactured V type linear ultrasonic motor and the nanometer through hole are used as the key components in the platform for the first time. The experiments on the biological cell manipulation show that the positioning, adsorption, release and movement of biological cells are carried out finally in the operation platform. The size of the operated cells is less than $20\ \mu\text{m}$.

Key words: micro/nano operation; linear ultrasonic motor; nanometer through hole; biological technology; cells

0 引言

随着生物学的发展,人类开始在细胞层面研究影响生物遗传和变异的因素^[1]。按照人们的需求,在细胞水平上重组细胞的结构和内含物质,通过细胞融合以及组织和细胞培养等操作方法,达到改变生物结构和功能的目的,并且已在生物制药、基因治疗、优生优育等关系到国计民生的领域内得到了

广泛的应用^[2-8]。在生物科学研究和实验中,微纳操作是一个难以突破的技术瓶颈。目前现有细胞微操作台都是集成有微夹持器、玻璃微针、显微镜及电子控制系统,它利用电子控制系统手动控制微夹持器和玻璃微针来实现对目标细胞的操作。这种操作方式需要人工参与,并对操作者的操作经验、心理素质,甚至劳动强度提出了很高的要求。因此迫切需

收稿日期:2016-04-25

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51275229);国家重大仪器设备开发专项基金资助项目(2012YQ100225)

作者简介:吴必成(1992-),男,江苏盐城人,硕士生,主要从事振动工程方面的研究。姚志远(1962-),男,江苏镇江人,博士生导师,主要从事振动测试与分析、结构动力学建模和仿真、超声电机技术的研究。

要发展更先进的微纳操作台,以便使细胞操作更简单,操作效率和成功率更高,并减少对实验操作人员的经验要求。1999年,南开大学研制出我国第一台能够进行生物显微试验的微操作机器人系统,该系统以一台倒置显微镜为主体,配置了左右两个可进行空间三自由度运动的机械臂、平面两自由度可控平台及自动调焦系统,可在显微视觉引导下,由计算机控制,双臂协调地进行自动或半自动操作^[9]。2000年,北京航空航天大学成功研制了具有视觉反馈的微操作系统,主要部件为倒置生物显微镜、微动载物台、左右操作手、摄像头、控制系统等。该系统能在摄像头下完成全局视觉闭环反馈,可对活体细胞进行自动或半自动显微操作。由于在系统引入压电驱动器和柔性铰链机构作为系统的驱动机构和传动机构,提高了系统的可控性和精确度^[10]。2004年,南京理工大学研究的数字化细胞微注射平台对鱼卵细胞进行了注射实验^[11],所操作的鱼卵细胞直径为 $\varnothing 160\ \mu\text{m}$ 。

先进的细胞微操作平台必须突破三项的关键技术,即

1) 如何准确定位生物细胞^[12-14]。由于生物细胞的大小为微米级,必须借助精密定位仪才能准确地定位细胞的位置。在显微镜下观察目标细胞与定位尖端的位置关系,通过对精密定位仪的精确操作实现对细胞的定位^[15-17]。

2) 负压生成部件的设计制作。采用吸附力这种方式吸附定位特定的生物细胞是定位细胞的一种方式,这种方式需要精确的负压生成部件产生吸附力。

3) 玻璃基纳米通孔的制造。由于所研究的生物细胞平均大小在 $1\sim 20\ \mu\text{m}$,这对定位尖端部件的构件提出了尺寸上的要求,只有微米级的构件才能有效地控制生物细胞,这样的要求限制了细胞微操作技术的发展。

该项研究采用南京航空航天大学自主研究制造的玻璃基纳米通孔作为定位尖端,满足控制细胞的尺寸要求。本平台采用南京航空航天大学自主设计的三自由度精密定位仪作为精密定位部件。此定位仪的位移分辨率为 $1\ \mu\text{m}$ 。本项研究设计了一种新型的生物细胞微操作平台,平台包括三自由度精密定位仪、负压驱动部件(V型直线超声电机、注射器和硅胶软管)和玻璃基纳米通孔。三自由度精密定

位仪将固定于微操作台上的玻璃基纳米通孔的尖端精确定位到单个生物细胞或者细胞群上,负压驱动部件提供微操作生物细胞所需的负压力,将定位到的生物细胞吸附到玻璃基纳米通孔的尖端,实现对特定细胞的吸附固定和释放等操作。

1 细胞微操作台设计与原理计算分析

1.1 操作台设计与组装

该操作台包括三自由度精密定位仪、负压驱动部件(直线超声电机、注射器和硅胶软管)和玻璃基纳米通孔,如图1所示。

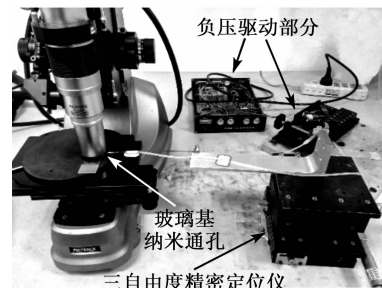


图1 细胞微操作平台

三自由度精密定位仪可以实现 $x-y-z$ 方向的精确定位,每个方向的定位精度为 $1\ \mu\text{m}$ 。由于生物活体细胞的大小在 $20\ \mu\text{m}$,此定位仪的定位精度满足实验要求。负压驱动部件由V型直线超声电机、注射器和硅胶软管组成。V型直线超声电机是负压的动力来源,该电机的定子由两个垂直的、连续变截面的Langevin振子^[18]组成,每个Langevin振子长为 $60\ \text{mm}$ 。电机的最大推力为 $50\ \text{N}$,位置分辨率为 $50\ \text{nm}$ ^[19]。注射器容积为 $1\ \text{mL}$,其内径为 $4.60\ \text{mm}$ 。此部件如图2所示。



图2 负压驱动部件

负压驱动部件采用压力差这样的驱动控制方式实现对流体中活体细胞的吸附控制,进而实现对生物粒子进行运输、分离及定位。通过软管的密封连接将注射器中产生的负压强传递到纳米通孔的尖端处,从而实现对生物粒子的微操作。V型直线超声电机可以控制吸附力的大小和持续时间,这种方式操作简单、响应快。

玻璃材料具有优良的微加工性能,且管道内壁

特性易于处理,在生物芯片、微流体控制方面有着广泛的应用。采用南京航空航天大学自主研究设计的毛细玻璃管拉伸装置,加工出符合技术指标的玻璃基纳米通孔。加工出的纳米通孔样品需要进行通透性验证才能实现吸附细胞等操作。本次设计采用在注射液压力作用下是否能在通孔尖端产生液滴这样的验证方式。将制造出的通孔连接到负压驱动部件上,推进注射器中的淡蓝色硝酸铜溶液(便于显色),在显微镜下观察孔的尖端是否能产生液滴,能够在尖端产生球冠状液滴的纳米通孔才能进行下一步的实验。图 3 为具有通透性的通孔尖端,这样的通孔满足实验要求。



图 3 具有通透性的通孔尖端

通孔尖端的内径为 $\varnothing 13.73 \mu\text{m}$, 外径为 $\varnothing 42.79 \mu\text{m}$ 。由于活体动物细胞的大小在 $1 \sim 20 \mu\text{m}$, 这样的通孔尖端可有效地实现对活体细胞的微操作。将纳米通孔的末端与硅胶软管密封连接, 确保负压能够有效地生成。

1.2 负压生成原理与计算分析

设 V 型电机的最大推力 $F_1 = 50 \text{ N}$, 最小位移 $s_1 = 50 \text{ nm}$ 。经测量得注射器的内径 $d_1 = 4.60 \text{ mm}$, 本次实验采用的纳米通孔的尖端的内径 $d_2 = 13.73 \mu\text{m}$, 在显微镜下的测量数据如图 3 所示。根据流体压强规律可得, 当电机后退的位移为 50 nm 时, 产生负压强 p , 则

$$p = \frac{4F_1}{\pi d_1^2} \quad (1)$$

在纳米通孔的末端产生吸附力 F_2 , 则

$$F_2 = p \times \frac{\pi d_2^2}{4} = \frac{F_1 d_2^2}{d_1^2} = 4.45 \times 10^{-4} (\text{N}) \quad (2)$$

对于本次研究的生物细胞, 由于细胞大小在 $20 \mu\text{m}$, 式(2)中计算的 F_2 的大小可有效地对特定细胞实现微操作。该电机有连续运动和间歇运动两种运动模式。电机的运动方向分为正、反向运动。 F_2 是电机在控制器的控制下后退一个 s_1 时产生的吸附力。当电机在连续反向运动模式下时, 在玻璃

基纳米通孔的尖端会产生持续的吸附力, 实现对生物细胞的吸附固定。当电机反向运动时, F_2 变小直至为 0, 则可以释放已吸附的细胞。

2 微操作实验研究与分析

本次实验细胞采用在小白鼠上培养提取的癌细胞。癌细胞与普通的动物细胞相比, 具有生命活力更强、易控制等特点^[20], 满足本次实验多次微操作的要求。用胶头滴管从容器中吸取适量含有癌细胞的培养液滴在载玻片上, 调整好显微镜后, 在显微镜下可观察到游离的癌细胞和聚集的癌细胞, 细胞大小在 $20 \mu\text{m}$ 以内, 如图 4 所示。

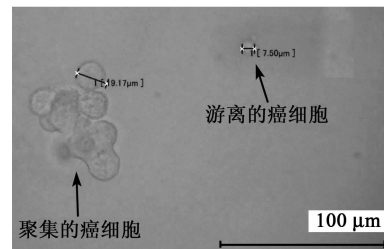


图 4 细胞状态与尺寸

搭建好平台后, 通过操作三自由度精密定位仪, 将玻璃基纳米通孔的尖端精确定位到特定的癌细胞上, 在显微镜下如图 5、6 所示。

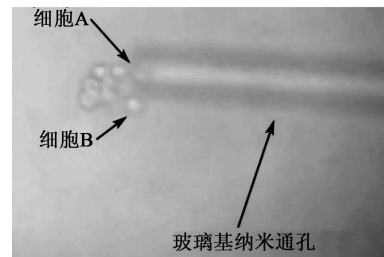


图 5 定位到细胞 A

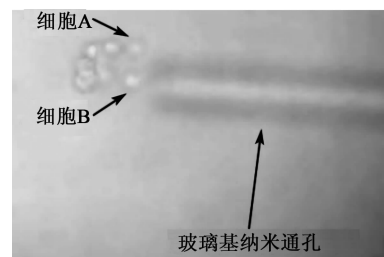


图 6 定位到细胞 B

首先, 将通孔尖端准确定位到特定的癌细胞 A 之后, 用控制器控制负压驱动部件, V 型直线超声电机的驱动模式选择连续信号激励且使电机反向运动, 则在通孔的尖端处产生持续的 F_2 , 对特定的细胞 A 实现吸附操作。操作三自由度定位仪, 可将吸附的癌细胞移动到指定的位置上, 然后反向施加信

号激励,则可缓慢地释放细胞 A。

操作细胞 A 结束后,调整精密定位仪,将玻璃基纳米通孔的尖端定位到下一个特定的癌细胞 B,重复同样的操作,可以实现对细胞 B 的吸附、释放和移动等操作。

实验研究表明,此操作台可以实现对大量特定细胞的高效率操作,所操作的细胞大小在 $20\ \mu\text{m}$ 以内。

3 结 论

1) 提出了一种新型的生物细胞微操作台,并用于细胞吸附、释放等实验操作。该平台结构简单,易于操作。平台由三自由度精密定位仪、负压驱动部件和玻璃基纳米通孔构成。该平台利用 V 型直线超声电机作为精密驱动元件,能够提高位移精度,精确快速地将通孔尖端定位到特定的生物细胞,所操作的细胞大小在 $20\ \mu\text{m}$ 内。

2) 利用其中的负压驱动部件产生的吸附力,可以有效地实现对特定活体细胞的吸附控制,反向施加信号激励,可以释放已吸附的活体细胞,实现对细胞的吸附、释放和移动等操作。

3) 采用自主设计的玻璃基纳米通孔,通孔尖端的直径最大不超过 $\varnothing 50\ \mu\text{m}$,实现对特定的微小生物细胞的微操作。

参 考 文 献:

- [1] LEE J W, WU S C, TIAN X C, et al. Production of cloned pigs by whole-cell intracytoplasmic microinjection[J]. *Biology of Reproduction*, 2012, 69(3):995-1001.
- [2] 霍乃蕊,韩克光. 细胞融合技术的发展及应用[J]. *激光生物学报*, 2006, 15(2):209-213.
- [3] 江行娟,杨庆云,任大明,等. 枯草杆菌中通过细胞融合的质粒转移[J]. *遗传学报*, 1981(1):3-9.
- [4] XIA J. Disturbance signal in atomic force microscope based microinjection detection[J]. *Journal of Mechanical Engineering*, 2008, 44(8):118-122.
- [5] 罗士韦. 植物组织与细胞培养研究工作的进展及其应用[J]. *植物生理学报*, 1978(1):15-20.
- [6] 王春景,刘玉琴,张宏,等. 细胞培养操作中常见问题及处理对策[J]. *基础医学与临床*, 2009, 29(3):335-336.
- [7] HOSOKAWA Y, IGUCHI S, YASUKUNI R, et al. Gene delivery process in a single animal cell after femtosecond laser microinjection[J]. *Applied Surface Science*, 2009, 255(24):9880-9884.
- [8] SASAKI J, YOUOKU S. Development of microchannel device for automated micro-injection[J]. *Proceedings of SPIE- the International Society for Optical Engineering*, 2005, 15(13):170-182.
- [9] MATSUOKA H, KOMAZAKI T, MUKAI Y, et al. High throughput easy microinjection with a single-cell manipulation supporting robot[J]. *Journal of Biotechnology*, 2005, 116(2):185-194.
- [10] 毕树生. 面向生物工程的微操作机器人系统研究[D]. 北京:北京航空航天大学, 2002.
- [11] 刘天军. 数字化细胞微注射技术及其应用研究[D]. 南京:南京理工大学, 2004.
- [12] TSIPOURAS P, TAFAS T. Device and method for detecting and localizing cells by means of photosensitive waveguides: US6759663[P]. 2004.
- [13] SUGARBROAD I, CELLMER J, OHANA A, et al. Method for locating a cellular radiocommunication mobile station, and equipment for implementing the method: US5850609[P]. 1998.
- [14] KASUGA T, YAMANISHI H. System, operation cell, method, product manufacturing method, and marker for locating operation position: US8761921 [P]. 2014.
- [15] 欧阳航空,陆林海,侯彦丽. 精密定位平台的系统误差分析及螺距误差补偿方法的实现[J]. *机电工程*, 2005, 22(1):22-26.
- [16] 程维明,孙麟治,章海涛. 利用补偿提高精密定位平台的定位精度[J]. *光学精密工程*, 2008, 16(5):884-888.
- [17] 田俊,张宪民. 基于柔顺机构的两自由度微动精密定位平台的分析与设计[J]. *机械设计与制造*, 2009(5):205-207.
- [18] 李志荣,许海,孙春华. 兰杰文振子的结构动力学有限元模型[J]. *苏州市职业大学学报*, 2013(1):8-13.
- [19] 时运来,李玉宝,赵淳生. V 形大推力直线型超声电机的运动机理分析[J]. *压电与声光*, 2008, 30(6):772-775.
- [20] 彭亦良,梁后杰. 癌细胞运动与迁移的分子机制[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2006, 5(10):794-79.