



TAMPEREEN TEKNILLINEN YLIOPISTO
TAMPERE UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

JANNE NIEMELÄINEN
MIKRONÄYTTEENOTIN SOLUVILJELYN PH-ARVON MITTAAMI-
SEEN
Diplomityö

Tarkastaja: professori Jukka Lekkala
Tarkastaja ja aihe hyväksytty
Teknisten tieteiden tiedekuntaneu-
voston kokouksessa 5. kesäkuuta
2013

TIIVISTELMÄ

TAMPEREEN TEKNILLINEN YLIOPISTO

Automaatiotekniikan koulutusohjelma

NIEMELÄINEN, JANNE: Mikronäytteenotin soluviljelyn pH-arvon mittaamiseen
Diplomityö, 69 sivua, 19 liitesivua

Lokakuu 2013

Pääaine: Factory Automation

Tarkastaja: professori Jukka Lekkala

Avainsanat: mikronäytteenotto, mikroventtiili, mikrokanava, pH:n mittaus, soluviljely, näyte, anturi

Tämän työn tarkoituksena oli suunnitella ja toteuttaa mikronäytteenotin solukasvatusliuoksen pH:n mittaamiseen käyttäen osaltaan kaupallisia komponentteja, mutta myös itse valmistettuja järjestelmän osia. Pää tavoitteena oli saada analysoitua pH mahdollisimman pientä näytemäärää käyttäen. Kohde, johon näytteenotin suunniteltiin, on Ihmisen varaosat – projektin aikana kehitetty ihmisen kantasolujen kasvatusympäristö.

Työn teoriaosuudessa esitellään pH:n mittausmenetelmiä, mikrofluidististen järjestelmien osia, materiaalivaihtoehtoja ja solukasvatuksen perusteita. Teoriaosuutta seuraa esiselvitys näytteenottimen suunnittelua varten. Ensiksi esitellään kaupallisia vaihtoehtoja näytteenottoon ja pH:n analysoimiseen, jonka jälkeen tutkimusesimerkki automatisoidusta pH:n analysointijärjestelmästä. Lopuksi kuvaillaan vaihtoehtoja näytteenottimen suunnittelun suuntaviivoiksi ja viimeistellään esiselvitys näytteenottojärjestelmän vaatimusmäärittelyllä.

Tutkimusmenetelmät jaetaan kahteen osioon, joista ensimmäisessä luodaan näytteenottimen alkeellinen prototyyppi ja jälkimmäisessä kehittyneempi versio. Näytteenotin valmistettiin polydimetyylisiloksaanista käyttäen pehmytlitografista menetelmää ja monipuolisia käsivalmistusvaiheita. Näytteen pH:n analysoimiseen käytettiin kaupallista Sentron MicroFET-anturin ja SI600-mittarin yhdistelmää. Näytteenottimella suoritettiin pH:n mittausta käyttäen puskuriliuoksia ja solukasvatusliuosta erisuuruisilla näytemäärillä. Tulosten perusteella lopullisen näytteenottimen analysoinnin tarkkuus kasvatusliuosmittauksissa ylsi $\pm 0,1$ yksikköön, kun näytemäärän suuruuden vaikutus poistettiin. Puskuriliuosten mittauksissa 84 % tuloksista oli $\pm 0,2$ yksikön sisällä odotetuista arvoista ottaen huomioon myös virheelliset mittaustapahtumat. Suurimpana tulosten teknisenä virhelähteenä todettiin olevan näytekeruukammion virheellinen täyttö ajoittain, joka pahimmissa tapauksissa saattoi vääristää tuloksia useita pH-yksiköitä. Lopputuloksena saatiin kuitenkin kehitettyä näytteenotin, jonka potentiaali yleiskäyttöisenä mikronäytteenottimena solukasvatuksen lisäksi on merkittävä.

Jatkotoimenpiteinä kehitystyötä on syytä jatkaa, jotta näytteenottimen analysoinnin luotettavuutta saadaan kasvatettua. Lisäksi näytteenoton automatisointi ja rakenteen jalostaminen ovat askelia kohti näytteenottimen tuotteistamista.

ABSTRACT

TAMPERE UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

Master's Degree Programme in Automation Engineering

NIEMELÄINEN, JANNE: Micro sampler for cell cultivation pH-measurement

Master of Science Thesis, 69 pages, 19 Appendix pages

October 2013

Major: Factory Automation

Examiner: Professor Jukka Leikkala

Keywords: micro sampling, micro valve, micro channel, pH-measurement, cell cultivation, sample

The purpose of this thesis was to design and implement micro sampler for pH measurement of a cell cultivation medium using not only commercial but also self-made parts. The main goal was to analyse pH from as small sample as possible. The target to where micro sampler was designed is the human stem cell cultivation environment developed during the Human Spare Parts – project.

In the theoretical part of this thesis pH measurement methods, microfluidic system parts, material options and cell cultivation basics are being introduced. Theoretical part is followed by a preliminary study for micro sampler including preview for commercial sampling and pH measurement systems, an example of a research about automated pH measurement system, and options for guidelines of this thesis. The preliminary study is closed to requirement specification of the sampling system.

The study methods are divided into two parts. During the first one a primitive prototype is being created which is followed by an advanced prototype in the second iteration cycle. As a result of the study a micro sampler was created using polydimethylsiloxane material, soft lithography method of manufacture and versatile hand-made phases. Sentron MicroFET-probe and SI600-meter were used in the prototypes. Analyses were made using buffer solutions and cell cultivation medium with wide range of sample sizes. Based on the results the accuracy of the final micro sampler was $\pm 0,1$ pH units when the cultivation medium was analysed after the effect of the sample volume was eliminated. Tests with the buffer solutions showed that 84 % of the results were between $\pm 0,2$ units from expectations including clearly incorrect measurements. How the sample settled around pH probe was noted to be the biggest technical source of error causing several units distortion in the worst case scenario. As a final result a sampler with significant potential to be a general-purpose micro sampler was created.

Future development should be continued with the improvement of the sampling reliability. Additionally sampling automation and improved structure design is needed in the progress towards productization.