

# MONOCLIMATE INCUBATION CHAMBER

**Anežka Kovářová**

Master Degree Programme (1), FEEC BUT

E-mail: xkovar71@stud.feec.vutbr.cz

Supervised by: Jiří Sekora

E-mail: sekora@feec.vutbr.cz

**Abstract:** This project deals with the design of the monoclimatic incubator chamber for in vitro cell cultivation and cell observing under the confocal microscope. It is based on requirements and parameters set by the biophysics laboratory of the Department of Biomedical Engineering. The resultant device will serve for optical measurements of in vitro cell cultivations.

**Keywords:** In vitro cell cultivation, sensor, monoclimatic incubator, temperature control, microcontroller, Arduino

## 1 ÚVOD

Cílem práce je návrh inkubátoru, dále testování autonomního programu pro kontrolu a nastavení parametrů prostředí, konkrétně teploty, koncentrace  $O_2$  a  $CO_2$  tak, aby výsledkem byl komplexní návrh inkubátoru na míru laboratoře biofyziky pro potřeby měření na konfokálním mikroskopu.

V rámci návrhu je třeba vycházet z určitých podmínek důležitých pro efektivní kultivaci buněk. Základní je zejména teplotní rozsah prostředí inkubátoru, který by se měl pohybovat v rozmezí  $37\text{ }^\circ\text{C}$  až  $45\text{ }^\circ\text{C}$ , a atmosféra s koncentrací  $CO_2$  kolem  $5\%$  a  $O_2$  mezi  $3\%$  a  $21\%$ , oboje s přesností  $\pm 0,5\%$ . Dále je nutné udržení relativní vlhkosti atmosféry okolo  $90\%$  z důvodu zamezení odparu vody z kulturačního média.[1]

Vzhledem k aplikaci pro konfokální mikroskop jsou konstrukčně limitující rozměry inkubátoru, které zcela vylučují použití běžně dostupných komerčních inkubátorů, konkrétně se jedná o maximální rozměry  $7\text{ cm} \times 12\text{ cm} \times 5,5\text{ cm}$  (hloubka  $\times$  výška  $\times$  šířka), a maximální nosnost základny mikroskopu  $400\text{ g}$ .

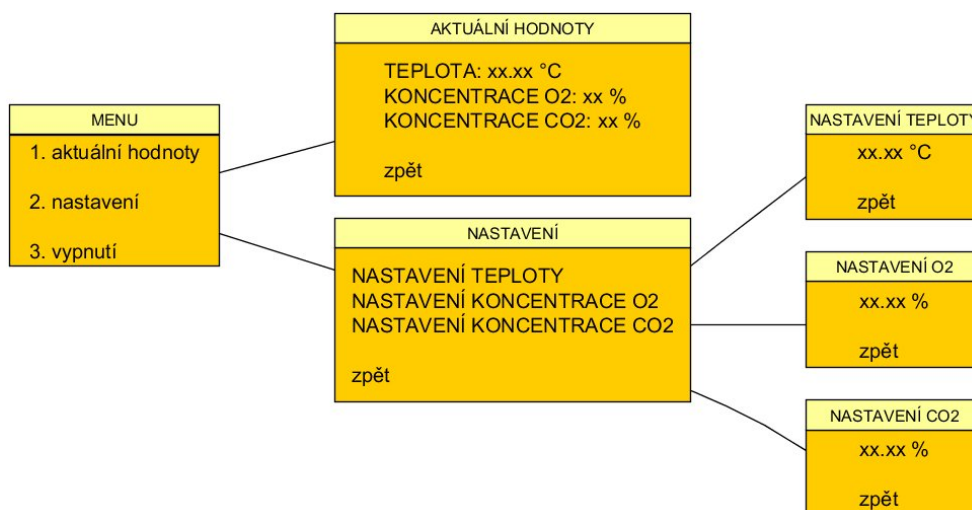
## 2 ŘÍDÍCÍ ČÁST INKUBÁTORU

Jádrem elektronické části inkubátoru je platforma Arduino Mega, která zajišťuje obsluhu všech potřebných senzorů, komunikaci s uživatelem pomocí LCD ( $4 \times 16$  znaků) a rotační enkodér KY-040 pro pohyb v menu. Firmware mikrokontroléru je sestaven jako nekonečná programová smyčka, která po počáteční konfiguraci parametrů prostředí inkubátoru (teploty a atmosféry) uživatelem autonomně hlídá a reguluje nastavené hodnoty prostředí. Schéma menu řídicího programu je na obr. 1.

## 3 REGULACE PARAMETRŮ PROSTŘEDÍ

### 3.1 REGULACE TEPLoty

Pro snímání teploty je použito platinové čidlo Pt100 z důvodu vysoké přesnosti, chemické netečnosti a časové stálosti senzoru. Vzhledem k požadavku monoklimatičnosti jsou použity dva senzory, jejichž teplotní rozdíl je softwarem vyhodnocován a na základě tohoto rozdílu je spouštěn mikroventilátor v komoře. Sensory jsou zapojena Wheatstoneově můstku a po zesílení přístrojovým zesilovačem



**Obrázek 1:** Schéma uživatelského menu

přivedeny na vstup ADC mikrokontroléru. Ve smyčce regulace teploty je řešeno pouze vytápění, jelikož požadovaná teplota uvnitř inkubátoru vždy převyšuje teplotu okolního prostředí. Pro dosažení co největší přesnosti je vytápění realizováno pomocí odporové cartridge HT15W od Thorlabs, která je řízena pomocí PWM a fuzzy logiky, díky čemuž jsou minimalizovány překmitání nad požadovanou teplotu.[2, 3]

### 3.2 REGULACE ATMOSFÉRY

Atmosféra je regulována pomocí dvou vstupů z tlakových lahví, konkrétně pomocí CO<sub>2</sub> a N<sub>2</sub>, pro regulaci jsou použity spínané tlakové ventily. Nejdříve třeba regulovat kyslík, protože slouží vstup CO<sub>2</sub>, který vytlačí jeho molekuly ven z komory. Naopak koncentrace CO<sub>2</sub> je řízena vstupem dusíku. Pro snímání koncentrace O<sub>2</sub> je použit senzor GS Oxygen Sensor KE-25 - převodník koncentrace napětí, který je opět zesílen pomocí přístrojového zesilovače a digitalizován. Pro snímání CO<sub>2</sub> je použit digitální senzor MH-Z16 NDIR, který přímo komunikuje s mikrokontrolérem po sběrnici I2C.[2]

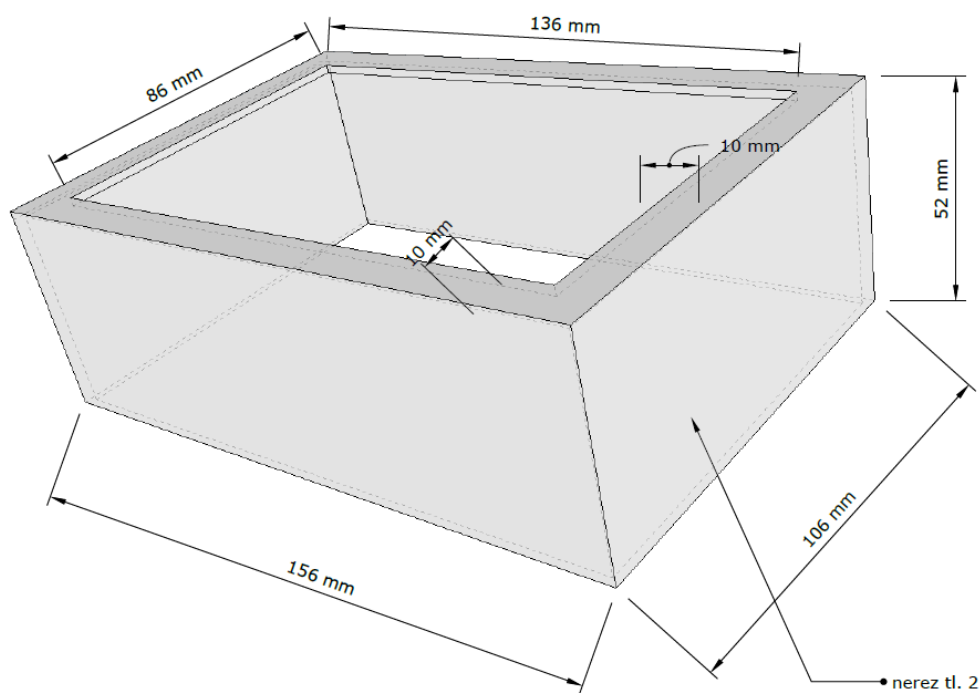
Běžně je pro regulaci tlaku využívána přirozená netěsnost inkubátoru, která zároveň umožňuje vstup kyslíku z atmosféry dovnitř. Pokud by došlo k přetlaku v komoře, je zde ještě třetí ventil, který slouží jako přetlaková pojistka. Systém snímá tlak uvnitř komory i vně senzory BMP180 a reaguje na nastavenou hranici rozdílu tlaků.

### 3.3 KONTROLA VLHKOSTI

Vlhkost prostředí uvnitř komory je pouze snímána a hodnota bude také zobrazována na displeji. Primárně není vlhkost uvnitř komory generována, ale pokud by její hodnota klesla pod danou mez (95 %), bylo by to signalizováno na displeji a obsluha by zasáhla dle potřeby (např. doplněním kulturačního média).

## 4 KONSTRUKČNÍ ŘEŠENÍ KOMORY

Výsledná komora inkubátoru je vyrobena z Cr-Ni-Mo nerezové oceli dle nákresu na obr. 2. Vzhledem k požadavku použití pro konfokální mikroskop je dno komory vyrobeno z křemičitého skla, jehož spektrální vlastnosti umožňují průchod UV záření. Dno je ke komoře připevněno silikonovým spojem. Horní odnímatelný díl je vytvořen z polymethylmethakrylátu (plexiskla).



**Obrázek 2:** Konstrukční náčrt komory pro výrobu

## 5 ZÁVĚR

Testováním na modelu komory se ověřila a potvrdila správnost návrhu, kdy bylo možné přesně regulovat všechny požadované parametry v zadaných mezích. Systém umožnil dosáhnout všech požadovaných parametrů do necelých 5 minut, což je vyhovující pro danou aplikaci. Řídící elektronika je umístěna mimo komoru inkubátoru a spojena pouze vodičovou sběrnicí s jednotlivými senzory, čímž se podařilo omezit velikost inkubátoru a splnit tak požadavky a limity použití pro měření na konfokálním mikroskopu.

## PODĚKOVÁNÍ

Inkubátor vznikl ve spolupráci s Ing. Katarínou Fabianovou, která se zabývala vývojem části pro regulaci parametrů atmosféry.

## REFERENCE

- [1] VEJRAŽKA, Martin. Buněčné kultury. Podklady z předmětu Molekulární medicína a biotechnologie, přednáška č. 6. Ústav lékařské biochemie, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze.
- [2] WILSON, Jon S. Sensor technology handbook: theory, design and implementation, Boston: Elsevier, c2005, ix, 691 p. Engineering. ISBN 07-506-7729-5.
- [3] ĎAĎO, Stanislav a Marcel KREIDL. *Senzory a měřicí obvody*. Praha: Vydavatelství ČVUT, 1996. ISBN 80-010-1500-9.