

УДК 57.088.2; 532.685

Пневмовакуумная установка сепарации растворов ДНК

Пугачук А.С.⁽¹⁾, Кузнецова Ю.С.⁽²⁾

*Аспирант⁽¹⁾, студентка⁽²⁾, кафедра «Вакуумная и компрессорная техника»
МГТУ им. Н.Э. Баумана, г. Москва, Россия*

*Научный руководитель: Чернышев А.В., д.т.н., профессор кафедры «Вакуумная и
компрессорная техника» МГТУ им. Н.Э. Баумана г. Москва, Россия*

МГТУ им. Н.Э. Баумана
pugachukalexandr@mail.ru

Важнейшим объектом исследования биологических структур является молекула ДНК. Она содержит в себе информацию, необходимую для исходного материала (криминалистика, медицина), оценки его биологической опасности (вирусология), а также для выявления изменений, произведенных с данным материалом (генетика, биоинженерия, селекция). Широкое распространение исследований ДНК обусловлено большим спектром областей применения, в которых имеется постоянная необходимость качественного и быстрого получения требуемой информации.

Для проведения исследований различного рода биоматериалов необходимо провести следующие основные этапы: отбор пробы, транспортировка/хранение, предварительное разрушение клеточной структуры, грубая очистка, пробоподготовка, анализ. Этап пробоподготовки является одним из важнейших, т.к. занимает значительное время по сравнению с остальными этапами, а также оказывает основное влияние на эффективность и точность исследования. Ошибки, возникающие на этапе пробоподготовки, составляют в среднем 70-95 % от общего числа погрешностей исследования.

Одним из сложнейших этапов пробоподготовки является выделение ДНК из исследуемого материала. К наиболее распространенным методам выделения ДНК можно отнести: вакуумную сепарацию, разделение в гравитационном поле (центрифугирование) и разделение в магнитном поле. В данной работе рассматривается метод, осуществляемый с помощью системы вакуумной сепарации ДНК установки пробоподготовки [1].

Метод вакуумной сепарации является эффективным и в то же время достаточно простым. Он основан на том, что при нанесении исходного раствора ДНК и различных примесей на подложку с сорбентом (силикагелем) и добавлении раствора хаотропных (способствующих повышению энтропии) солей молекулы ДНК вследствие нерастворимости осаждаются и связываются сорбирующим материалом. При снижении высокой концентрации солей растворимость молекул ДНК повышается, они десорбируются и переходят в раствор. Таким образом, в то время как искомые нуклеиновые кислоты связаны с силикагелем, можно растворить и удалить раствор с другими белками и ингибиторами ПЦР. Основной рабочий процесс перемещения раствора – прокачивание его через пористую подложку с частицами силикагеля – осуществляется благодаря созданию перепада давления с использованием вакуумной системы.

В настоящее время на рынке современного лабораторного оборудования представлено большое количество установок, предназначенных для проведения массовых процедур пробоподготовки. Оборудование, необходимое для работы в лабораториях с незначительным объемом исследований, отсутствует. Потребителями данного оборудования могут быть клиничко-диагностические лаборатории при небольших медицинских учреждениях, лаборатории санитарного контроля, пункты контроля пищевых продуктов и сырья. Существует острая необходимость создания комплекта оборудования для анализа ДНК в полевых условиях. Таким образом, актуальным является разработка доступного, простого и надежного в эксплуатации оборудования, не требующего присутствия высококвалифицированного обслуживающего персонала.

Для разработки нового эффективного оборудования необходимо строгое математическое описание рабочих процессов, происходящих в вакуумной системе установки. В данной работе проводится математическое описание процесса течения раствора через пористый элемент, находящийся внутри рабочей ячейки планшета. Создана математическая модель процесса течения рабочей среды через пористое тело. Она базируется на следующих допущениях:

1. Жидкость несжимаема.
2. Течение стационарное, установившееся и изотермическое.
3. Верхняя и нижняя волокнистые структуры входят в расчетную область.
4. Материал фильтра изотропен.
5. Принят вязкостный коэффициент сопротивления $\beta = 1,35 \cdot 10^8 \frac{\text{кг}}{\text{м}^3 \cdot \text{с}}$, найденный в работе [1].
6. В качестве характеристик раствора принимаются характеристики воды.

Модель описывается следующими уравнениями:

1. Уравнение неразрывности потока сплошной среды: $\text{div}(\rho \vec{v}) = 0$;
2. Линейное уравнение Дарси, используемое для описания течения жидкости

через пористые тела: $\vec{v} = -\frac{k}{\mu} \text{grad} p$ или нелинейное уравнение Дарси-Форхгеймера:

$(\beta + \alpha |\vec{v}|) \vec{v} = -\text{grad} p$, где α и β – соответственно инерционный и вязкостный коэффициенты сопротивления.

Процесс течения через пористое тело описывается линейным уравнением Дарси для случая малых скоростей, когда основное значение имеет вязкость жидкости, а нелинейным уравнением Дарси-Форхгеймера для случая больших скоростей, когда инерционность среды имеет существенное влияние на характер течения и его параметры. Для полного описания процесса необходимо выяснить возможность применения линейного закона в исследуемой области давлений и найти границу его применимости.

В рамках данной работы с использованием изготовленного прототипа блока вакуумной сепарации проведен эксперимент, в котором через исследуемую ячейку с пористым телом прокачивалась вода. Были измерены значения расхода при соответствующих перепадах давления на пористом теле. Эти значения осреднены по времени, т.к. рассматривалось стационарное течение, а перепад давления поддерживался постоянным.

По результатам эксперимента была построена зависимость расхода через рабочую ячейку в зависимости от перепада давлений. Предварительно считается, что модель может быть описана линейным законом Дарси для течения через пористый элемент, но для обоснования такого вывода проводится расчет числа Рейнольдса и проверяется условие применимости этого закона. Проверка осуществляется с помощью сравнения числа Рейнольдса, рассчитанного в узком сечении ячейки, со значениями критических чисел Рейнольдса при течении в порах. Критерии применимости закона Дарси и основные зависимости для оценки характера течения в пористых телах, применяемые в данной работе, описаны в методиках Павловского, Фенчера (Льюиса/Бернса) и Абдулвагабова [2].

Исходными данными для нахождения границы применимости закона Дарси являются данные эксперимента, а именно средняя скорость в нижнем сечении пористого тела и соответствующий перепад давлений. В результате расчета по выбранным методикам делается вывод о том, что закон Дарси для описания течения жидкости в

пробирках установки пробоподготовки при перепадах давления в 420 мм.рт.ст. и более неприменим.

Определение границы применимости закона Дарси проводится также с помощью расчетного исследования с использованием численной модели на базе созданной математической модели. С помощью методики Павловского была рассчитана скорость, при которой число Рейнольдса не превышает критического (при течении в порах): $v_{лин} = 0,03 \text{ м/с}$. Данное значение используется в качестве граничного условия для численной модели.

На основе математической модели была создана трехмерная численная модель. На рис. 1. представлена сетка конечных элементов расчетной области численной модели.

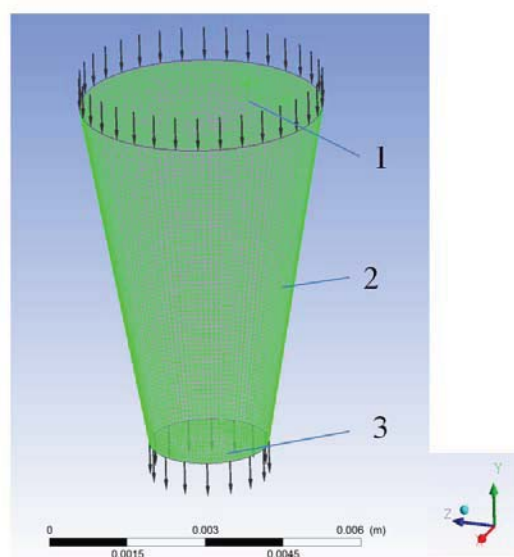


Рис. 1. Сетка расчетной области.

- 1 – вход в пористое тело;
- 2 – правая граница (стенка);
- 3 – выход из пористого тела.

Для решения численной модели задаются следующие граничные условия:

1. Стенка ячейки 2 абсолютно непроницаема, течение без скольжения, следовательно, скорость жидкости на ней равна нулю;
2. Давление на верхней границе 1 (входе) равно атмосферному;
3. Скорость на нижней границе 3 (выходе) равна $v_{лин}$.

Решение численной трехмерной модели проводится с помощью метода конечных элементов и реализовано в программном пакете Ansys CFX.

В результате решения численной модели получено среднее значение давления на выходе из пористого тела $p_2 = 87350 \text{ Па}$. Следовательно, при снижении давления в рабочей полости блока сепарации менее p_2 для математического описания течения раствора следует использовать уравнение Дарси-Форхгеймера.

Для проверки результатов численного моделирования необходимо создать экспериментальный стенд – прототип пневмовакuumной установки сепарации ДНК. Изготовленный ранее экспериментальный образец вакуумного блока сепарации ДНК [1] имеет ряд недостатков, связанных со спецификой эксперимента. Данный вариант вакуумной камеры трудоемок при работе, т.к. имеет болтовое соединение верхней и нижней частей камеры. Для удобства использования установки необходимо предусмотреть быстроразъемное соединение блока сепарации без потери свойств герметичности. Поэтому был спроектирован и изготовлен вакуумный блок сепарации в исполнении с магнитным соединением частей камеры (рис. 2). Соединение частей происходит в цилиндрическом шарнире, который обеспечивает угловой поворот верхней части относительно нижней части камеры. Магниты, установленные в нижней части, в совокупности с болтами в верхней части обеспечивают прижимную силу, достаточную для предварительного обжатия уплотнительного кольца. Также для удобства работы предусмотрены сферические пазы для ухвата верхней части камеры при открытии.

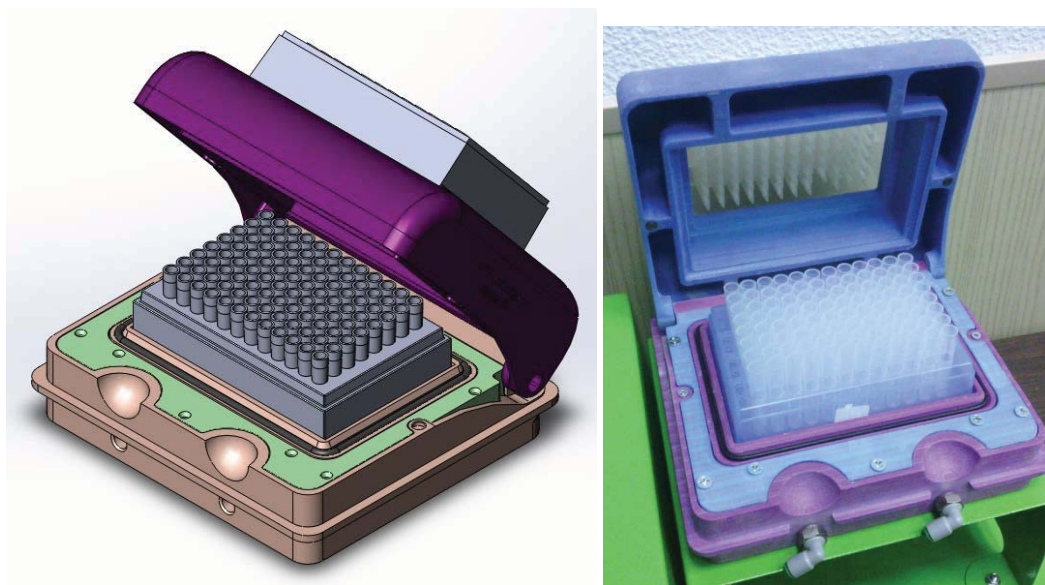


Рис. 2. Модель блока вакуумной сепарации с магнитным соединением (слева) и изготовленный его прототип (справа)

Разработанная ранее модель установки пробоподготовки была доработана и изготовлены корпусные детали. Блок вакуумной сепарации устанавливается на верхнюю <http://sntbul.bmstu.ru/doc/532941.html>

часть корпуса. На корпусе имеется резистор управления, благодаря которому возможно управление частотой вращения двигателя мембранного насоса, а, следовательно, его быстротой откачки. Индикация давления осуществляется с помощью внешнего вакуумметра. В корпусе установки пробоподготовки располагаются мембранный насос, плата управления и плата блока питания. Колба-ловушка расположена на внешней стенке корпуса в разъемном держателе. Такое расположение позволяет своевременно заменять заполненную колбу. Питание установки осуществляется от сети переменного тока с напряжением 220 В.

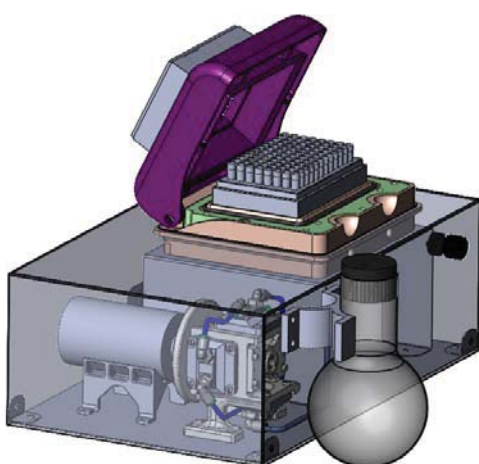


Рис. 3. Модель пневмовакuumной установки сепарации растворов ДНК (слева) и изготовленный ее прототип (справа)



Рис. 4. Фотография мембранного вакуумного насоса внутри установки пробоподготовки

Установка находится в рабочем состоянии. В дальнейшем планируется экспериментальное исследование характеристик установки при прокачке через планшет с пористыми элементами исходного раствора ДНК.

Заключение. В результате работы была создана математическая модель процесса течения жидкости через пористый элемент под действием перепада давления в установке пробоподготовки. На ее основе разработана численная модель данного процесса. В ходе работы был проведен эксперимент и найдена зависимость расхода от перепада давления, а также получены результаты численного решения математической модели. В ходе работы проведено исследование и определен коэффициент пористости для рабочего элемента ячейки планшета фирмы Orochem системы сепарации ДНК, который составил $m=0,46$. Проведена оценка применимости закона Дарси для течения рабочей среды через пористое тело под действием перепада давлений с помощью методик Павловского, Фенчера и Абдулвагабова. При перепадах давления на пористом теле более 13500 Па рационально применять закон Дарси-Форхгеймера, т.к. закон Дарси не описывает процесс течения с достаточной точностью. На основе результатов проведенных исследований была спроектирована пневмовакуумная установка сепарации растворов ДНК.

Список литературы

1. Пугачук А.С., Кузнецова Ю.С., Чернышев А.В. Разработка пневмовакуумной установки пробоподготовки //Студенческий научный вестник. Сер. “Профессионал”: Сб. статей Молодежной научно-инженерной выставки «Политехника» – 2011. 21-24 ноября 2011 г. МГТУ им. Н.Э. Баумана – М.: НТА «АПФН», 2011. – 254 с.
2. Басниев К.С., Власов А.М., Кочина, И.Н. Подземная гидравлика: Учебник для вузов, «Недра», 1986. – 303 с.
3. Гиматулинов Ш.К. Физика нефтяного и газового пласта: учебник. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Недра, 1971. – 312 с.
4. Патанкар С. Численные методы решения задач теплообмена и динамики жидкости. - М.: Энергоатомиздат, 1984. - 152 с.