

(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2017 00693**

(22) Data de depozit: **21/09/2017**

(41) Data publicării cererii:  
**30/03/2018** BOPI nr. **3/2018**

(71) Solicitant:  
• **UNIVERSITATEA "VALAHIA" DIN  
TÂRGOVIȘTE, BD. REGELE CAROL I NR.2,  
TÂRGOVIȘTE, DB, RO**

(72) Inventatori:  
• **GURGU ION VALENTIN, STR. GLAVA,  
NR.40, SAT PUCHENI, COMUNA  
MOROENI, DB, RO;**  
• **DRAGOMIR FLORIN,  
BD. MIRCEA CEL BĂTRÂN BL.H5, AP.4,  
TÂRGOVIȘTE, DB, RO;**

• **RĂDULESCU NICOLAE GABRIEL,  
STR.PRINCIPALĂ NR. 33, SAT MANJINA,  
COM.VOINEȘTI, DB, RO;**  
• **DULAMĂ IOANA-DANIELA, STR.GÎLMEIA  
NR.13, COMARNIC, PH, RO;**  
• **BUCURICĂ IOAN ALIN, ȘOS. NAȚIONALĂ  
NR.119, SAT BĂNEȘTI, COM. BĂNEȘTI,  
PH, RO;**  
• **IVAN MIHAELA EUGENIA,  
BD. INDEPENDENȚEI NR. 22, BL. 4, SC. B,  
AP. 38, TÂRGOVIȘTE, DB, RO**

(54) **SISTEM MICROROBOTIC MOBIL PENTRU  
MANIPULAREA/SORTAREA DE ORGANISME UNICELULARE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un sistem microrobotic mobil, pentru manipularea/sortarea de organisme unicelulare. Sistemul conform invenției cuprinde o arenă de deplasare (1) susținută de o platformă, arena (1) având în colțuri patru porturi circulare, ce permit conectarea a patru micropompe, care introduc sau elimină lichidul care transportă microorganismele din arenă (1), porturile circulare comunicând cu centrul arenei prin intermediul unor microcanale ce acționează ca dirijoare pentru celule, un sistem de bobine (4A, 4B, 4C, 4D) generatoare de câmp electromagnetic, și dispuse în cruce, pentru asigurarea deplasării unui agent microrobotic feromagnetic (9), și un circuit electronic de comandă (6, 7) al agentului microrobotic feromagnetic.

Revendicări: 1  
Figuri: 3

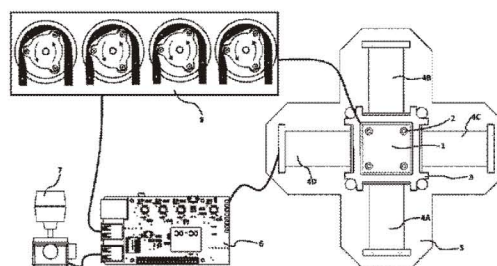


Fig. 1



## DESCRIEREA INVENȚIEI



### *Titlul invenției*

## **SISTEM MICROROBOTIC MOBIL PENTRU MANIPULAREA / SORTAREA DE ORGANISME UNICELULARE**

### *Precizarea domeniului de aplicare a invenției*

Invenția se referă la un sistem microrobotic mobil pentru manipularea/sortarea de organisme unicelulare, capabil să manipuleze celule biologice la scară micrometrică, putând fi folosit și în aplicații biomedicale.

### *Precizarea stadiului cunoscut al tehnicii în domeniul obiectului invenției, cu menționarea dezavantajelor soluțiilor tehnice cunoscute*

Dielectroforeza și penseta optică reprezintă două metode actuale utilizate pentru manipularea materialului biologic, la scară micrometrică și submicrometrică [1-11]. Limitările acestor procedee sunt:

- Dielectroforeza și penseta optică sunt două mijloace indispensabile când vorbim de manipularea obiectelor cu dimensiuni sub un micrometru. Indiferent de dezavantajele prezentate, aceste două mijloace sunt frecvent utilizate în manipularea celulelor / organismelor biologice [12].
- Transferul energetic prin câmp electric în cazul dielectroforezei și prin lumină în cazul pensetei optice, produce o serie de încălziri locale în mediile biologice cu care se lucrează, efectul Joule [13-15] devenind cel ce limitează folosirea acestora în cazuri biologice particulare.
- O altă limitare a acestor tehnici este reprezentată de automatizarea proceselor de manipulare [16-18].
- De cele mai multe ori celulele / organismele supuse manipulării sunt fotosensibile la expunerea cu laser, iar prin utilizarea pensetei optice se poate influența (sau chiar distruge) comportamentul / caracteristicile acestora. Utilizarea pensetei optice în aceste cazuri impune o serie de metode complicate prin manipularea indirectă a acestor celule fotosensibile, prin contactul cu alte celule (insensibile la lumină), dar care necesită puteri mărite ale undei, crescând riscul încălzirii mediului biologic suport [19-24].

În tehnicile actuale de control a pensetelor optice, particulele țintite sunt prinse direct și manipulate printr-un fascicul laser. Forța generată de o capcană optică prin intermediul unui

fascicul laser este foarte mică (de ordinul piconewtonilor) și din acest motiv este insuficientă pentru manipularea unei celule mai mari sau a unui obiect. Totodată, flexibilitatea manipulării optice depinde, de asemenea, de proprietățile fizice ale probei (specimenului). Un obiect ce are același indice de refracție ca cel al mediului fluid nu poate fi prinsă în mod direct cu ajutorul unei laser. Din acest motiv, tehnicile actuale de control a pensetelor optice nu pot fi folosite în scopul manipulării diferitelor tipuri de celule sau obiecte cu dimensiuni mari. [25]

Manipularea de tip on-chip în canale mici prin utilizarea vibrațiilor ultrasonice este o altă tehnică de dirijare a obiectelor de dimensiuni reduse. Aceasta se realizează prin aplicarea de tensiuni ridicate ce generează vibrații acustice ale incintei și astfel particulele sunt prinse în liniile nodale ale undei staționare. Această tehnică nu poate fi aplicată organismelor vii întrucât le poate distruge [26].

#### *Problema tehnica pe care o rezolvă invenția*

Sistemul microrobotic dezvoltat elimină problema încălzirii mediului biologic în care și cu care se lucrează. De asemenea, celule și organismele vii, în urma manipulării cu acest sistem, nu suferă modificări de comportament și caracteristici.

Dimensiunea celulelor/organismelor unicelulare și elasticitatea membranelor acestora nu reprezintă un impediment, manipularea lor prin intermediul sistemului microrobotic fiind accesibilă indiferent de tipul celulei. Indiferent de indicele de refracție al celulei și al mediului fluid în care se realizează manipularea, dispozitivul poate interveni cu precizie fără a deteriora celula/organismul unicelular.

Activitatea de manipulare a organismelor unicelulare este un prim pas în dezvoltarea unui sistem biomedical dedicat sortării de celule sau a intervenției pe țesuturi de dimensiuni reduse. În acest sens, propunerea actuală vine cu o soluție de mare impact, nelimitată de dezavantajele procedeele standard.

#### *Prezentarea soluției tehnice*

Invenția abordează o nouă metodă de manipulare a celulelor prin intermediul unui microrobot (un fero-magnet, din material biocompatibil).

Microrobotul poate fi controlat de un operator cu ajutorul unui joystick, iar prin intermediul acestuia (microrobotului) putându-se manipula alte componente externe (ex: celule sau organisme unicelulare). Sistemul propus permite operatorului să ghideze microrobotul către o celulă sau un grup de celule și să le deplaseze (prin împingere) spre o zonă dorită.

Sistem microrobotic mobil pentru manipularea/sortarea de organisme unicelulare este alcătuit din trei părți, astfel:

- i. Ansamblu format din spațiul de deplasare (arena), porturi circulare pentru conectarea tuburilor flexibile de la ansamblul de pompe peristaltice, agentul microrobotic feromagnetic și generatoarele de câmp electromagnetic necesare acționării microrobotului precum și platforma suport (Figura 1, componentele 1, 2, 3, 4A, 4B, 4C, 4D și 5; Figura 2).
- ii. Circuitul electronic de comandă și control al agentului microrobotic feromagnetic în spațiul de deplasare (Figura 1, componentele 6 și 7).
- iii. Ansamblul micro-fluidic format din pompe peristaltice de înaltă precizie destinate injectării organismelor unicelulare (Figura 1, componenta 8).

Arena (spațiul de deplasare) se compune dintr-o structură din dimetilpolisiloxan (Polydimethylsiloxane - PDMS) cu baza de sticlă (Figura 3). În colțurile arenei sunt prevăzute patru porturi circulare ce permit conectarea a patru micropompe prin intermediul unor tuburi flexibile; micropompele introduc sau elimină lichidul care transportă micro-organismele din arenă.

Porturile circulare comunică cu centrul arenei (în care se găsește agentul microrobotic feromagnetic) prin intermediul unor microcanale. Astfel, cele patru microcanale acționează ca și dirijatoare pentru celulele ce intră / ies în / din arena microfluidică.

Platforma suport (bază) are ca rol susținerea ansamblului arena-microrobot pe de o parte, și a elementelor auxiliare necesare părții de detecție și control, pe de altă parte. Cele 4 generatoare de câmp electromagnetic (Figura 1 componentele 4A, 4B, 4C, 4D) au fost dispuse în formă de cruce pentru a putea asigura deplasări ale agentului microrobotic feromagnetic în toate direcțiile impuse: dreapta - stânga, sus - jos, sau în direcții rezultate din compunerea deplasărilor pe cele două axe verticală și orizontală, precum și obținerea de rotații în plan.

În scopul acționării pe cale electromagnetică a microrobotului, s-a realizat circuitul electronic de comandă, pe de o parte, și controlul prin implementarea programelor corespunzătoare în MatLab, pe de altă parte. Placa electronică de conversie a fost special proiectată pentru acest sistem.

Manipularea microrobotului este realizată de operator cu ajutorul unui joystick prin parcurgerea următorilor pași:

1. operatorul activează micropompa / micropompele de introducere a lichidului în arenă;
2. în momentul apariției organismului unicelular în arenă, operatorul va deplasa microrobotul (cu ajutorul joystick-ului prin intermediul câmpului electromagnetic creat de cele patru generatoare) pentru blocarea unui canal sau pentru împingerea organismului unicelular către canalul dorit;

3. operatorul activează micropompa de pe canalul prin care se dorește extragerea organismului unicelular (micropompa va extrage lichidul cu organismul unicelular).

Manipularea microrobotului este realizată prin atașarea la dispozitiv a unui joystick ce controlează curentul prin cele patru bobine. De exemplu, dacă se dorește o deplasare a microrobotului în sus, atunci maneta joystickului este deplasată de operator în sus. Astfel, curentul (și implicit câmpul electromagnetic) prin bobina ce corespunde acestei deplasări va crește proporțional. Pentru o manipulare mai ușoară, pe joystick sunt prevăzute trei butoane pentru controlul vitezei de deplasare a microrobotului, dar și de stabilire a sensului curentului prin cele patru bobine.

Pentru sortarea organismelor unicelulare, cu ajutorul microrobotului pot fi utilizate două moduri:

1. prin utilizarea microrobotului pentru blocarea intrării pe canalul microfluidic pe care nu se dorește intrarea organismului unicelular, după care este activată (pornită) micropompa de pe canalul microfluidic pe care se dorește extragerea (scoaterea) organismului unicelular;
2. prin utilizarea microrobotului pentru împingerea organismului unicelular către canalul microfluidic pe care se dorește extragerea organismului unicelular, după care este activată (pornită) micropompa.

În momentul activării (pornirii) unei micropompe pentru introducerea sau extragerea de lichid, în mod automat o altă micropompă va funcționa concomitent cu aceasta și va realiza operațiunea inversă pentru a nu se crea presiune în interiorul arenei.

#### *Referințe bibliografice*

- [1] Wang C. et al., Optical micromanipulation of active cells with minimal perturbations: direct and indirect pushing, *J. Biomed. Opt.*, **18**(4): art 045001, 2013.
- [2] Emiliani V. et al., Biological samples micro-manipulation by means of optical tweezers, *Microelectronic Engineering*, **78-79**: 575-581, 2005.
- [3] Eda H. et al., Development of biological-micro-manipulation system in scanning electron microscope, *Proceedings of 2003 International Symposium on Micromechatronics and Human Science*, 211-214, 2003.
- [4] Zhang R. et al., A multipurpose electrothermal microgripper for biological micro-manipulation, *Microsystem Technologies*, **19**(1): 89-97, 2012.
- [5] Thakur A. et al., Indirect pushing based automated micromanipulation of biological cells using optical tweezers, *The International Journal of Robotics Research*, **33**(8): 1098-1111, 2014.

- [6] Lackowski M. et al., Dielectrophoresis flow control in microchannels, *Journal of Electrostatics*, **71**: 921-925, 2013.
- [7] Nieminem T.O. et al., Optical tweezers: Theory and modeling, *Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer*, **146**: 59-80, 2014.
- [8] Becker F.F. et al., Separation of human breast cancer cells from blood by differential dielectric affinity, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **92**: 860-864, 1995.
- [9] Pethig R., Dielectrophoresis: using inhomogeneous ac electrical fields to separate and manipulate cells, *Crit. Rev. Biotechnol.*, **16**: 331-348, 1996.
- [10] Markx G.H. et al., Dielectrophoretic separation of bacteria using a conductivity gradient, *J. Biotechnol.*, **51**: 175-180, 1996.
- [11] Muller T. et al., Trapping of micrometer and sub-micrometer particles by high-frequency electrical fields and hydrodynamic forces, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **29**: 340-349, 1996.
- [12] Hawes C. et al., Optical tweezers for the micromanipulation of plant cytoplasm and organelles, *Curr Opin Plant Biol*, **13**(6): 731-735, 2010.
- [13] Berns M.W., Optical tweezers: tethers, wavelengths and heat, *Methods Cell Biol*, **82**(455): 457-466, 2007.
- [14] Stilgoe A.B. et al., The effect of Mie resonance on trapping in optical tweezers, *Opt. Express*, **16**(19): 15039-15051, 2008.
- [15] Stout B. et al., Laser-particle interactions in shaped beams: beam power normalization, *J. Quant Spectrosc Radiat Transf*, **126**: 31-37, 2013.
- [16] Muller T. et al., High frequency fields for trapping of viruses, *Biotechnol. Tech.*, **10**: 221-226, 1996.
- [17] Green N.G. et al., Manipulation and trapping of submicron bioparticles using dielectrophoresis, *J. Biochem. Biophys. Methods*, **35**: 89-102, 1997.
- [18] Green N.G. et al., Dielectrophoretic separation of nano-particles, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **30**:L41-L44, 1997.
- [19] Chowdhury S. et al., Automated indirect manipulation of irregular shaped cells with Optical Tweezers for studying collective cell migration, 2013 IEEE International Conference on Robotics and Automation (ICRA), 2789 – 2794, 2013.
- [20] Chowdhury S. et al., Automated indirect transport of biological cells with optical tweezers using planar gripper formations, *8<sup>th</sup> IEEE Conf. Automat. Sci. Eng.*, 267-272, 2012.
- [21] S Chowdhury S. et al., Gripper synthesis for indirect manipulation of cells using holographic optical tweezers, *IEEE Int. Conf. Robot. Automat.*, 2749-2754, 2012.

- [22] Rezzoug N. et al., Dynamic control of pushing operations, *Robotica*, **17**(6): 613-620, 1999.
- [23] Banerjee A. G. et al., Realtime path planning for coordinated transport of multiple particles using optical tweezers, *IEEE Trans. Automat. Sci. Eng.*, **9**(4): 669-678, 2012.
- [24] Socol M. et al., Synchronization of dictyostelium discoideum adhesion and spreading using electrostatic forces, *Bioelectrochem.*, **79**(2): 198-210, 2010.
- [25] Chien C.C. et al., Grasping and manipulation of a micro-particle using multiple optical traps, *Automatica*, **68**: 216–227, 2016.
- [26] Yamamoto R. et al., On-chip ultrasonic manipulation of microparticles by using the flexural vibration of a glass substrate, *Ultrasonics.*, In Press – Available online 2016.

## REVENDICĂRI

*Sistem microrobotic mobil pentru manipularea / sortarea de organisme unicelulare caracterizat prin aceea că este alcătuit din:*

- *spațiul de deplasare – arena (Figura 1 componenta 1);*
- *agentul microrobotic (Figura 3 componenta 9);*
- *sistemul de bobine, dispuse în cruce, necesare acționării microrobotului (Figura 1 componentele 4A, 4B, 4C și 4D);*
- *platforma suport (Figura 1 componenta 5),*
- *sistemul de comandă și control (Figura 1 componentele 6 și 7) al agentului microrobotic în spațiul de deplasare;*
- *ansamblul micro-fluidic de manipulare al organismelor unicelulare (Figura 1 componenta 8).*



# DESENE EXPLICATIVE

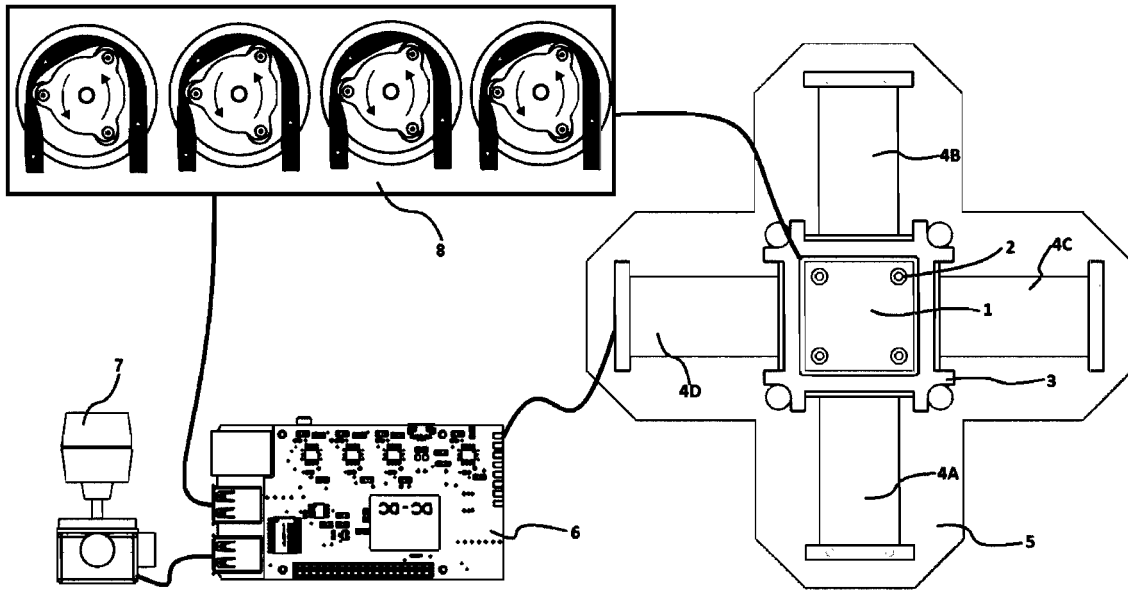


Figura 1.

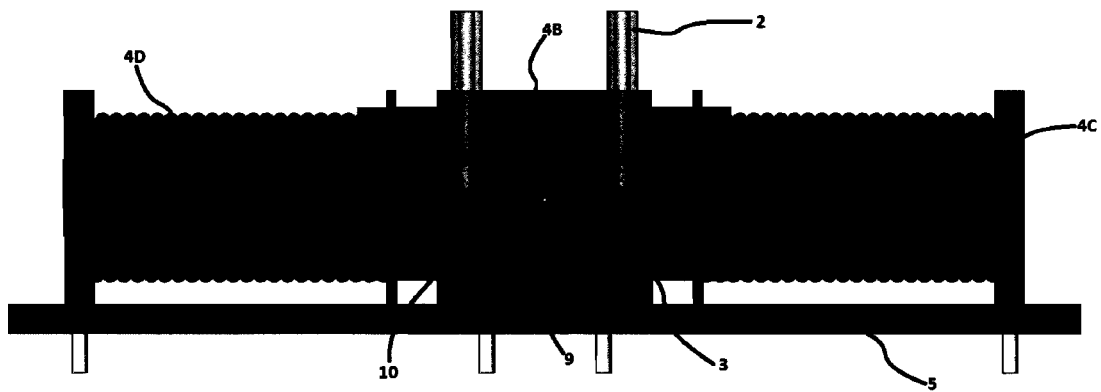


Figura 2.

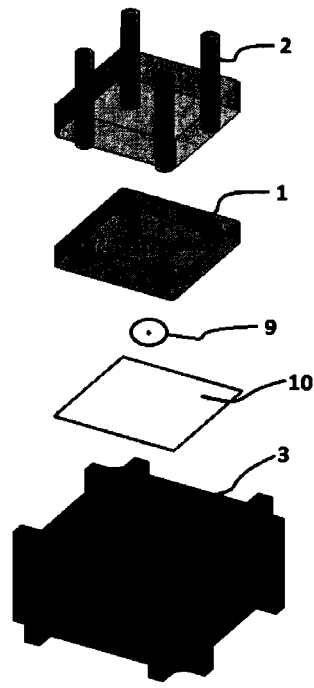


Figura 3.