

可用于克隆技术的微操作系统 构成原理的研究^{*}

李路明 王立鼎 任延同 于波 田兴志

(中国科学院长春光学精密机械研究所 长春 130022)

摘要 介绍了用于克隆技术的微操作系统的构成原理,克隆技术是当今生物工程中最热门的技术,原有的微注射设备存在着夹持手段单一,平面图像瞄准不够准确等缺点。本文介绍的微操作系统采用微机械技术,利用微夹钳来夹持工作物,感知夹力大小和工作物表面软硬程度;利用立体成像技术来代替平面成像,使操作更直观,瞄准更准确。文中详细介绍了系统的构成,各单元的配合及现有相关技术的发展背景,指出了这种系统的可行性。

关键词 克隆 微操作系统 构成

1 引言

今年,英国罗斯林研究所的科学家伊恩·维尔穆特和他的研究小组成功地采用乳腺细胞核作供体,经核移植后生出绵羊“多利”,引起国际社会的广泛关注。克隆是英文 Clone 的音译,意为无性繁殖,与 asexual reproduction 同意,指的是通过无性繁殖的办法得到单一个体。克隆有多种方法,“多利”的独特之处在于,它是第一个用成熟的体细胞来代替未受精的核而成功地产生遗传上同一的复本,而以前用的大多是胚胎细胞。包括人在内的哺乳动物的繁殖过程是这样的:精子和卵细胞结合成受精卵,受精卵分裂、增殖形成胚胎,胚胎最后发育成成体动物。“多利”特别之处在于它的生命诞生没有精子参与。研究人员先将一个绵羊卵细胞中的遗传物质吸出来,使卵细胞成为空壳,然后从一只6岁母羊身上取出一个乳腺细胞,将其中的遗传物质注

^{*} 国家攀登计划资助项目

收稿日期: 1997-07-10

修稿日期: 1997-09-09

入卵细胞空壳中,这样就得到了一个含有新的遗传物质但没有受过精的卵细胞。这一经过改造的卵细胞分裂、增殖形成胚胎,被植入另一只母羊子宫内,随母羊的成功分娩,“多利”便来到这个世界。在整个克隆技术的过程中,涉及到动物细胞的分离、融合、遗传物质的提取和重新注入、微切割等一系列物理操作过程。这里我们介绍的系统是一种可用于动物学细胞操作的新型微操作系统,该系统采用最先进的微型机械技术来提高性能。

目前,实验室中通常用一种显微注射系统来完成细胞的捕获、遗传物质的提取和注入等一系列物理操作。这套系统具有二根玻璃细针管,分别接可控的气压装置,大的针管内产生负压,用来吸附并捕捉住细胞,小的针管用来注入或抽取遗传物质。它配有相应的机电控制系统、显微镜及相关设备。该系统中细胞分离的方法通常是将细胞组织浸在分离液中,经振动,使细胞间质溶解分离,然后再用吸管吸住所需的细胞。这套系统能进行微注射。尽管这种显微注射技术经过较长时间的发展,迄今已陆续育成了转基因小鼠、兔、猪、绵羊、山羊及牛,但微注射制备转基因动物效率低(尤其是大家畜),使该技术体系从实验室走向开发应用进程很缓慢。

2 现有的显微注射操作系统

根据国内外的资料 and 实际考察,现有的微操作系统应用在生物学和医学领域,主要是用来进行微注射操作的,微注射是现代基因工程学中的重要基因导入手段,具有简洁方便的特点。对植物而言,基因导入的方法很多,有生物、电击、超声、基因枪等方法,都是将目的基因导入到细胞中去。植物细胞壁较厚,除基因枪外,其它的导入方法都需要事先去掉细胞壁,这就使导入工作变得麻烦。在现代生物工程界,许多科学家都认为,如果微注射技术能够有效地将外源 DNA 导入具有高再生能力的细胞或胚性细胞,那么它就一定能发展成为最有效的植物转化途径之一。因为只要微针管很容易地刺入细胞,微注射就能够将外源 DNA 注入细胞,并且细胞本身不受损伤,所以它在动物细胞工程中,是最主要的基因导入方法。微注射系统包括两根毛细玻璃管,一根尖端直径 $100\mu\text{m}$,利用管内产生的负压来吸附动物细胞,起固定作用。另一根尖端直径为几微米,刺入动物细胞并将其前端微量的遗传物质注入该细胞,起“针”的作用。目前,已在上述二个领域中应用的微注射系统,都是由二个微动的机械臂组成,只有三个平移自由度,并要求二臂配合,操作上不够灵活,效率较低。传动方式上分为液压传动、机械传动和压电致动等方式。现在国内的微注射系统主要是美国、日本和德国的产品,其中液压传动式的应用较多。这种液压传动方式由三个液压缸组成,操作端是由三个带有精密千分螺丝的驱动液压缸组成,可进行精确的进给。执行端由构成直角坐标的带有平滑导轨的小执行液压缸组成。每个执行液压缸都带有偏压弹簧,与液压驱动力构成动态平衡,并能在卸压后推动执行液压缸回到初始位置。操作端和执行端各坐标方向的液缸分别由导管连接。每个坐标方向的分辨率可达 $1\mu\text{m}$ 左右。其中,水液驱动的传动范围较大,精度也较高。

3 用于细胞操作的新型微操作系统

该微操作系统在借鉴传统微注射操作技术的基础上,采用微机械加工技术制作微夹钳、微针等单元,利用立体成像和精密螺旋传动,使细胞的分割、注射、夹持固定等操作过程更准确、

效率更高。

3.1 微操作系统的组成

微操作系统包括微工具、微动的机械臂和精密位移装置、立体显微镜、CCD 相机、图像处理电路和监视器,如图 1 所示。微工

具包括微夹钳、微针管。微夹钳能够精确控制夹持动作、控制夹持力并感知被夹持物的软硬程度。微针管能够刺破细胞膜,并将遗传物质注入或吸出。微针管如图 2 所示。粗的一端与可控气泵密封连接,通过对气泵的控制,将微针管内的物质定量、定时地注入或吸出。微夹钳的尺寸很小,能够夹持 $100\mu\text{m}$ 左右的微小物体,如细胞。在钳体上集成有力传感器,通过微力闭环反馈,传感器能检测到夹持力大小。微夹钳安装在位移装置的机械臂上。精密位移装置采用高精度螺旋传动,可手动或直流电机驱动。三根高精度丝杠构成直角坐标系,传动精度达 $1\mu\text{m}$ 。精密位移装置可沿 X、Y、Z 三轴进行直线移动。机械臂可以绕其自身轴线旋转。我们采用形状记忆合金来制作机械臂,以使机械臂能够侧向弯曲。如图 3 所示,一片记忆合金垂直方向弯曲,另一片与它垂直放置,可水平方向弯曲。整个精密传动装置(包括机械臂)共有 6 个自由度。自由度数目的增加使得操作动作更为灵活、有效。

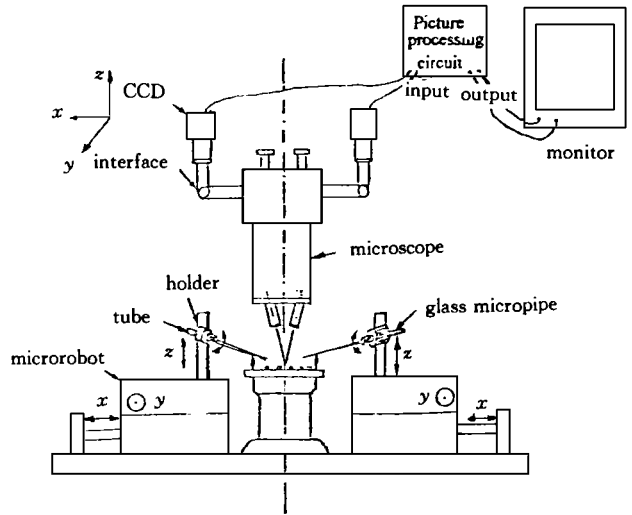
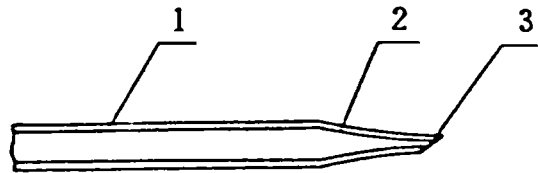
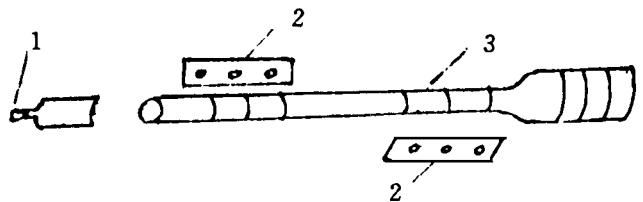


Fig. 1 The micromanipulator system schematic



1. capillary 2. transition area 3. section of top needle

Fig. 2 Diagram of glass suction needle



1. microclamp 2. SMA plate 3. arm

Fig. 3 The mechanical active arm schematic

3.2 微操作系统中的微夹钳技术

在机械臂的末端装有微夹钳,微夹钳的长度为 1.2mm ,宽度为 0.3mm ,厚度为 0.05mm

微夹钳采用硅材料, 采用硅深刻蚀工艺制作。整个夹钳对称地分为二个钳侧臂, 每个钳侧臂分为钳爪、钳体和钳根三个部分。钳爪是直接与被夹持物体接触的部位, 考虑到钳爪表面与被夹持物的夹持粘附特性, 需要在不改变钳爪表面性质的情况下, 在钳爪表面制作高度为 $1\mu\text{m}$ 左右的微小突起群, 提高表面粗糙度, 以降低粘附力。钳体上集成微驱动器, 微驱动器由平行电容极板构成, 当平板电容器充电后, 极板间产生侧向吸引力, 使钳体产生夹持动作。其中, 每块极板在电场中受到的侧向吸引力 F 按下式计算

$$U = \frac{\partial U}{\partial X} = \frac{\partial}{\partial X} \left(\frac{V^2}{2} C \right) = \frac{V^2}{2} \frac{\partial C}{\partial X}$$

式中, C 是平板电容器的电容, U 是平板电容器端电压。当微夹钳通以直流电后, 微驱动器产生夹持力, 使整个侧臂弯曲, 带动钳爪产生夹持动作。钳侧臂是弹性体, 可近似看成是材料力学中的悬臂梁, 当直流电去掉后, 它依靠弹性可恢复原位, 从而使钳口张开。

3.3 双目立体成像技术

本系统采用一台双目立体显微镜, 带有两台 CCD 相机。立体显微镜有两个物镜, 夹角为 6° ; 使两个物镜聚焦在一起。两路图像传入 CCD 相机, 两台 CCD 相机图像信号经多路电子开关电路进入监视器。操作者配戴液晶眼镜观看监视器, 液晶眼镜带有电子开关控制左、右镜片光路的通断。眼镜的电子开关与 CCD 图像多路电子开关频率同步。这样, 眼镜的左、右镜片就分别只接收左、右 CCD 相机的图像, 在人脑中合成为立体图像。立体成像更便于进行微细的三维操作。

3.4 微针及微位移技术

微针采用的石英玻璃, 膨胀系数小。在玻璃中间加热, 利用施加在玻璃管轴线方向的拉力, 控制玻璃针尖。针尖直径变化范围为 $1 \sim 100\mu\text{m}$ 。拉拔后的针尖利用金刚砂磨削修形或用电热丝加热修形。微位移采用螺距分别为 0.5mm 和 0.6mm 高精度的差动螺旋转动, 传动精度 $1\mu\text{m}$, 分辨率为 $0.5\mu\text{m}$ 。微位移载物台为三坐标结构, 可进行 X 、 Y 、 Z 三个方向的位移。

4 结 语

本系统可应用于克隆等生物实验技术中, 与传统微操作技术比较, 该系统采用微夹钳技术和立体成像技术, 微夹钳不仅能夹持微小工作物, 而且能感知工作物表面夹持力。立体成像比平面成像更直观, 操作瞄准更准确, 从而提高了系统的操作灵活性, 增强了系统功能。

参 考 文 献

- 1 Son J S, Montenverde E A etc. A tactile sensor for localizing transient events in manipulation. Proceedings, IEEE International Conference on Robotics and Automation, 1994, 1: 471 ~ 476
- 2 Fukuda T, Kawamoto A etc. Mechanism and swimming experiment of micro mobile robot in water. Proceedings, IEEE International Conference on Robotics and Automation, 1994, 1: 814 ~ 819
- 3 Rupp A, Velastin S A. A gripper and sensor system for controlled slip and force. ISIE '94, IEEE International Symposium on Industrial Electronics, Symposium Proceedings, 1994: 329 ~ 334
- 4 Aramaki Shinju, Kaneko Shinji, Arai Kazuhiko etc. Tube type micromanipulator using shape memory alloy

(SMA). Sixth International Symposium on Micromachine and Human Science, 1995: 115 ~ 120

The Research on Constructure Principle of Micromanipulation System Used in Clone Technique

LI Lu-Ming, WANG Li-Ding, REN Yan-Tong, YU Bo, TIAN Xing-Zhi
(Changchun Institute of Optics and Fine Mechanics,
Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022)

Abstract

This paper introduces the constructure principle of a kind of micromanipulation system, which can be used in the clone technique. Clone technique is the most promising technique in the modern biology field. The traditional microinjector have some shortcomings, such as rare capture method. Plane image is not enough for aiming at target effectively. This micromanipulation system in this paper uses microclamp to capture the object, which senses the clamping force and the hardness of the object surface. It also uses the stereo image in aiming at target more directly and more precisely. This paper also tells the history of the concern technique in biological field and the relationship between the work pieces and units techniques of the micromanipulation system in detail. At the end, we point out the possibility of the realization of this micromanipulation system.

Key words: Clone, Micromanipulation system, Construction

李路明 男, 1969 年生, 1991 年毕业于哈尔滨工程大学机械系, 获学士学位。1993 年考入中国科学院长春光学精密机械研究所读硕士学位, 曾从事过二维微位移工作台的研究。1995 年 1 月推荐直接攻读博士学位, 研究领域为微电子机械系统。博士研究课题是研制“微操作系统”。