

VISIÓN INVESTIGADORA
Clasificación del artículo:
INVESTIGACIÓN

COMPORTAMIENTO TERMICO PARA CÁMARA PCR
THERMAL BEHAVIOR FOR CAMERA PCR

Ricardo Piraján Cantillo[1]
Carlos López P. [2]

RESUMEN

El presente artículo muestra el procedimiento y los resultados obtenidos al realizar la simulación de una cámara de reacción para el proceso PCR *(Polimerase Chain Reaction)*, mediante el cual se amplifica el DNA. Para realizar esta simulación fue utilizado el software para Análisis mediante Elementos Finitos (FEA, Finite Element Analysis) ANSYS®.

Palabras clave

PCR, DNA, ANSYS®, cámara de reacción,

Summary

The present article shows the procedure and the obtained results when carrying out the simulation of a reaction camera for the process PCR (Polimerase Chain Reaction), by means of which the DNA is amplified. To carry out this simulation was used the software for analysis by means of finite elements (FEA, Finite Element Analysis) ANSYS®.

Key Words

PCR, DNA, ANSYS®, reaction camera

1 Ingeniero Electrónico de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Especialista en teleinformática de la Universidad Distrital, Msc. en Electrónica y Computadores de la Universidad de los Andes. Director del grupo de investigación INTEGRA adscrito al CIDC de la Universidad Distrital. e-mail: rpirajanc@udistrital.edu.co

2 Ingeniero Electrónico de la Universidad Nacional. Msc. en Electrónica y Computadores de la Universidad de los Andes.

Introducción

El sistema reacción en cadena de la polimerasa PCR *(Polimerase Chain Reaction)* es una técnica muy poderosa que permite amplificar una secuencia específica de DNA millones de veces en muy pocas horas, esta técnica fue inventada por el Dr. Kary Mullis en 1983, por lo cual recibió el premio Nóbel de química diez años después.

Básicamente el sistema consiste en tomar una cadena de ADN que se separa a una temperatura de 95ºC para después realizar un proceso de hibridización *(annealing)* a 72ºC por medio de la cual se une una pequeña molécula llamada *primer* a las cadenas separadas, posteriormente se

realiza el proceso de extensión para formar dos nuevas cadenas de ADN. Este ciclo se repite varias veces y se tiene diferentes réplicas de ADN; en la figura 1 se muestra un ciclo completo del proceso.

La figura 2 muestra el comportamiento que el sistema de control de temperatura debe generar en el líquido que contiene el ADN para obtener copias. Para lograr este propósito se utilizan calefactores y sensores de temperatura, de manera que se obtenga sistematicamente.

La figura 3 muestra el sistema de control de temperatura de un sistema PCR.

1. Composición típica de un Chip PCR

El chip está compuesto básicamente por tres partes importantes que son cámara de reacción, calefactores y sensores. En la figura 4 se muestra una configuración típica de una cámara de reacción para PCR.

Este chip consta de los siguientes elementos: cámara de reacción; en ella se coloca el fluido (polimerasa) la cual se someterá al proceso de calentamiento; calefactor, que se encarga de transmitir calor al fluido por medio de convección y sensores que son los encargados de verificar la temperatura del fluido.

En [3], [4] y [5] se muestran las diferentes posibilidades de materiales y ubicaciones de los calefactores, sensores y cubierta de la cámara de reacción.

1.1 Estructura de la cámara de reacción

Inicialmente se limitó el proyecto a una estructura totalmente rectangular, no se colocaron sensores y se colocó en la parte

Figura 1. Ciclo para obtención de copias de ADN

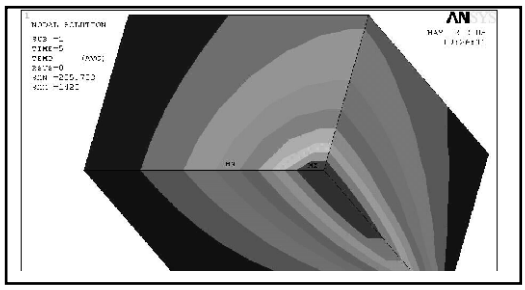


Figura 2 Ciclo de temperatura del sistema PCR

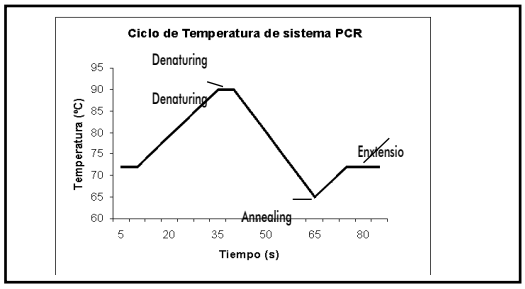


Figura 3. Sistema de control de temperatura PCR

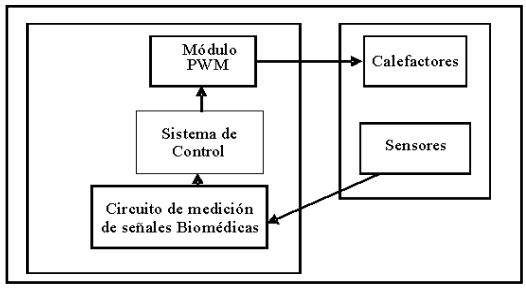
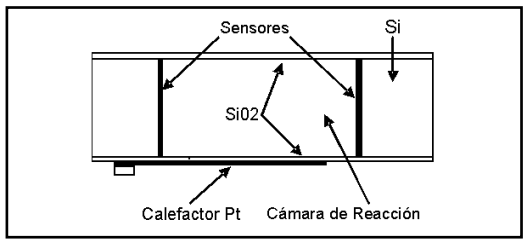


Figura 4. Chip PCR



inferior de la cámara un calefactor de platino como lo muestra la figura 6.

La figura 5 muestra la estructura final realizada para la simulación la cual consta de tres capas a las que se les asignaron las características físicas del Si, SiO_2 y platino. El Si se utilizó para las paredes de la cámara; el SiO_2 se utilizó para la tapas superiores e inferiores de la cámara, y el platino se utilizó para el calefactor.

El tamaño de la estructura es 0.9 mm de ancho, 0.9 mm de largo y 0.1mm de alto, dentro de ella se creó la cámara de reacción con medidas 0.3 mm de largo, 0.3 mm ancho y 0.1 mm de alto; como tapas superior e inferior se utilizó un plano con un ancho de 0.01 mm, que será la parte encargada de aislar el calefactor y el ambiente del fluido; como calefactor se colocó una capa de 0.01 mm de alto la cual se encuentra bajo la cámara.

Para simular un fluido se utilizó un material con propiedades similares a la del agua ya que para estas escalas los fluidos se comportan como ella.

2. Simulación y resultados

Para obtener una simulación se llevaron a cabo tres fases diferentes.

La primera fase consistió en realizar un análisis estático con la ubicación de un calefactor de platino en la parte inferior de la cámara, este modelo se utilizó para detectar la mejor ubicación de los sensores de temperatura.

En esta primera simulación se observó que con un calefactor con esta forma el

Figura 5. Estructura para simulación

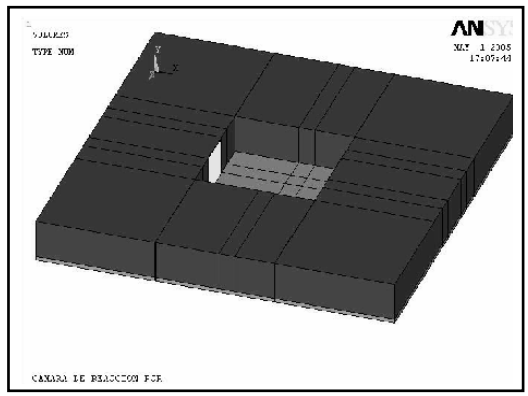


Figura 6. Distribución de Temperatura dentro de la cámara

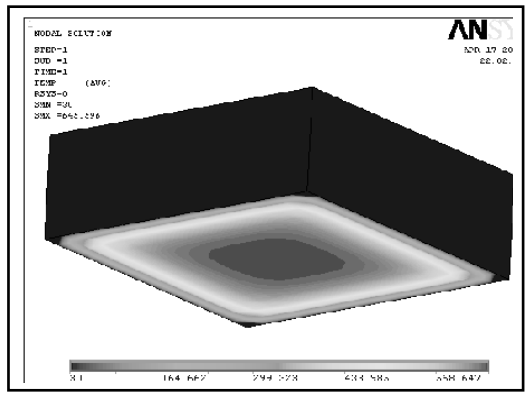
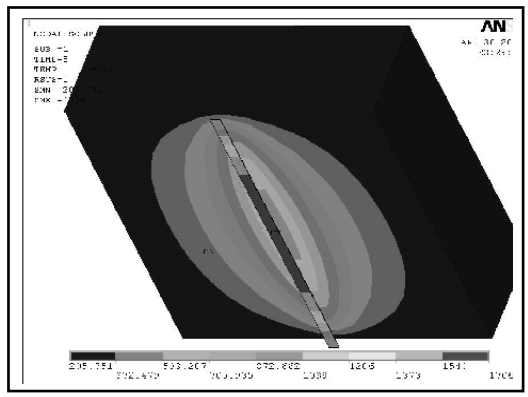


Figura 7. Distribución de temperatura con tira de platino



sistema tiene una inercia térmica grande ver figura 6.

La segunda fase consistió en modificar el calefactor de platino para obtener respuestas más acordes a una aplicación real. En este caso se cambió el calefactor cuadrado de platino por una tira del mismo material de dimensiones más reducidas, se observó que el calentamiento del líquido no es el requerido, ya que presentaba calentamiento en el centro, y en los bordes cambiaba demasiado la temperatura, como se observa en la figura 7 y figura 8.

Posteriormente se optó por cambiar el calefactor por uno en forma de U, de manera que se tuviera mejor distribución de temperatura en el líquido y una inercia térmica aceptable, ver figura 9.

La tercera fase consistió en realizar un análisis con variación del voltaje aplicado en función del tiempo, para lograr la respuesta deseada por el sistema de control PCR. La figura 10 muestra la curva obtenida de variación del voltaje con respecto a temperatura obtenida en el sensor. Esta curva puede aproximarse de forma cuadrática mediante la ecuación $T=19V^2+9.8e\text{-}5V+30[^oC]$ obteniendo errores menores al 0.5%.

Las características de los materiales utilizados para realizar la simulación se encuentran en la tabla 1. Dentro de estas características se tienen en cuenta el calor específico, la conductividad térmica para todos los materiales y la resistencia eléctrica, especialmente para el material calefactor. Para tal efecto se utilizó el comando MP (Matrix properties) de ANSYS 8.0.®

Figura 8. Distribución de temperatura en el líquido, debido a tira de platino (corte interno en el líquido)

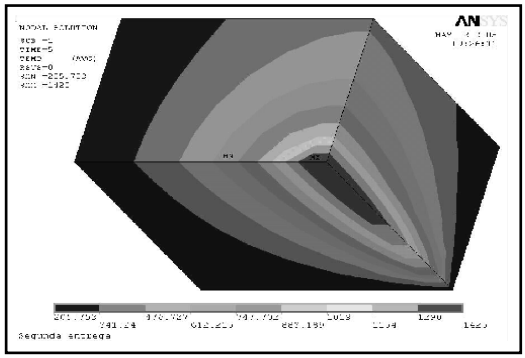


Figura 9. Distribución de temperatura debida a calefactor en forma de U

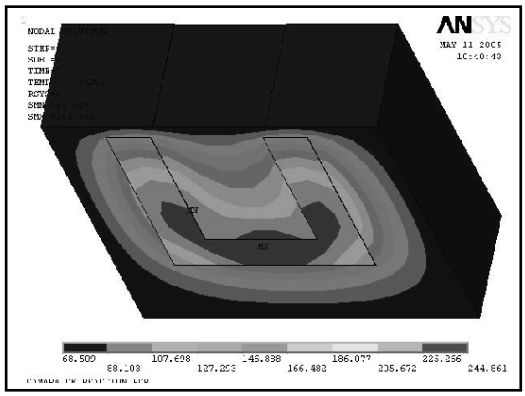


Figura 10. Variación de la temperatura con respecto a voltaje aplicado

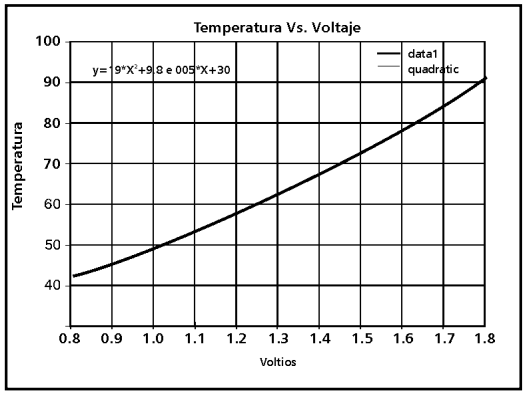


Tabla 1. Características de los materiales

material	conductividad termica(W/ m·ºK)	calor especifico (J/kg·ºK)	resistividad eléctrica (Ω·m)
SI	157	700	10E-6
SiO_2	1,4	1000	10E14
Pt	69,9	130	1,03E-06
H2O	0,58	4200	2.38E5

La obtención de resultados se logró realizando un acoplamiento secuencial de análisis físicos mediante ambientes físicos. El comando physics almacena, lee y lista toda la información de los elementos. La solución de cada ambiente físico se ejecuta por separado. Una vez se ejecuta la solución de un análisis físico los resultados son guardados y estos pueden ser empleados por el siguiente análisis como cargas.

En el modelo, primero se resolvió el análisis eléctrico y con los resultados de este se resolvió el análisis térmico. Empleando el comando Ldread y la etiqueta hgen, se leen las pérdidas de energía por el efecto Joule y se emplean como una carga generadora de calor. En cada solución se definen los grados de libertad y las cargas de acuerdo al tipo de análisis físico que desea resolver.

En el ambiente eléctrico solamente se ingresó la propiedad de resistividad para cada material, y los grados de libertad se establecieron en dos caras opuestas de la lámina de platino como una diferencia de potencial. Se busca que esta diferencia de potencial genere en el platino una densidad de corriente, la cual será empleada en la solución del siguiente ambiente físico como una carga.

Para el ambiente térmico se empleó el comando toffst para desplazar la escala de grados Kelvin en 273 grados, de esta forma la temperatura estará dada en grados Celsius. Para los materiales solo se definió la propiedad de conductividad térmica. Las cargas de convección se aplicaron directamente en los nodos de las áreas seleccionadas del material solid5. Este tipo de material permite que se apliquen cargas superficiales y por este motivo no se empleó el elemento de superficie surf152, también recomendado para este propósito. Para realizar el análisis se definieron grados de libertad de temperatura para los nodos de las áreas en las cuales no se aplicaron cargas. La solución de las ecuaciones de temperatura se resuelven empleando el comando fldata1 con la etiqueta temp, la cual indica el tipo de algoritmos de solución que se desea activar.

3. Análisis transiente

Para poder realizar el ciclo de temperatura del proceso PCR (ver figura 2) se empleó el análisis transiente. Este consiste en realizar cambios a una variable (en nuestro caso voltaje) durante intervalos de tiempo, de manera que se pueda observar la respuesta de otra variable (temperatura) durante los mismos.

Para realizar este análisis con ANSYS 8.0® seguimos el siguiente procedimiento:

- Creación de los ambientes físicos
- Establecer tipo de análisis con comando ANTYPE
- Establecer los intervalos de tiempo utilizando TIME y sus respectivos subdivisiones mediante el comando DELTIM

- Definir las cargas y los grados de libertad para cada paso; estas cargas deben ser almacenadas en archivos diferentes de manera secuencial

- Para obtener la solución transiente en ANSYS debe indicársele mediante el comando LSSOLVE la secuencia a realizar.

4. Resultados

Con la simulación del calefactor en forma de U se obtuvo una distribución de temperatura uniforme y una inercia aceptable para cambios de temperatura en el líquido, respondiendo en algunos segundos, como se muestra en la figura 11.

Los sensores de temperatura se ubicaron en las paredes dentro de la cámara y reaccionaron adecuadamente mostrando una distribución de temperatura bastante uniforme y un tiempo de respuesta adecuado. En la figura 12 se muestra la distribución de temperatura en el sensor.

Al realizar el análisis transiente se logró obtener la respuesta deseada con valores de 94ºC, 59 ºC y 70ºC con tiempos pequeños de respuesta y con facilidad de controlar la temperatura deseada, como lo indica la figura 13

Conclusiones

- Se utilizó el ANSYS® como herramienta de análisis y simulación, facilitando la experimentación de procesos, que de otra manera serían muy costosos; o difíciles de realizar.

- Se comprobó la flexibilidad del ANSYS® para realizar diferentes tipos de análisis como son el estático y el transiente.

Figura 11. Distribución de temperatura dentro del líquido

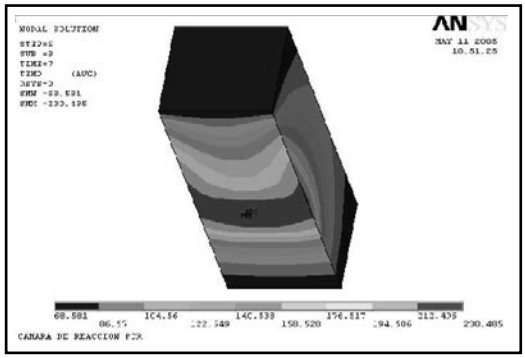


Figura 12. Distribución de Temperatura en el sensor

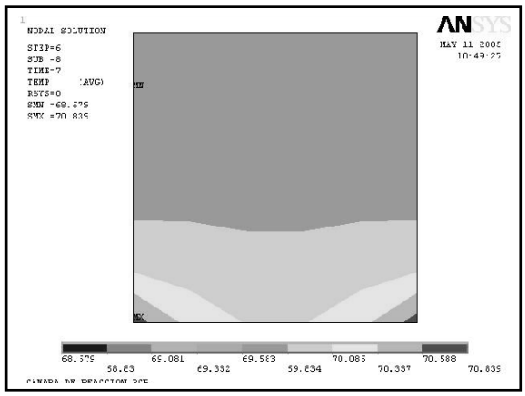
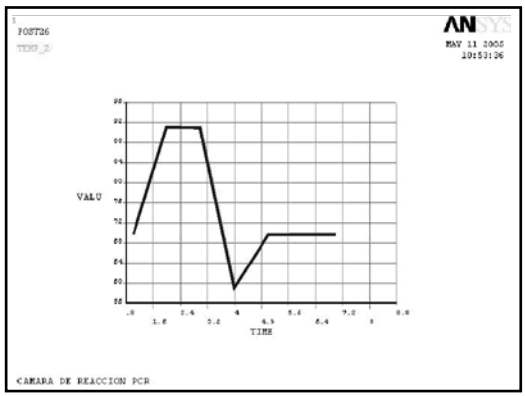


Figura 13. Simulación transiente



- Los ambientes multifísicos se convierten en una herramienta que simplifica el código, permitiendo interactuar con dos o más magnitudes físicas diferentes para llegar a un resultado que depende de varias magnitudes.

- Se logró obtener un sistema con una respuesta rápida (algunos segundos) y confiable, ya que el sensor capta adecuadamente la temperatura del líquido

- Finalmente, esta experiencia sirvió para identificar un lugar para la colocación de los sensores de temperatura y, en este caso, revisando el gradiente de temperatura, se puede observar que las paredes internas de la cámara son sitios adecuados.

Referencias bibliográficas

[1] Norton, Harry. "Sensores y Analizadores", Gustavo Gilli, España, 2002.

[2] ANSYS Inc, "Thermal Guide", Ayuda de ANSYS, 2005.

[3] Hsu, Tai Ran, "Mems and Microsystems", McGraw Hill, Singapore, 2002.

[4] Chia-Yen Lee, et al, MEMS-based Temperature Control Systems for DNA Amplification, Department of Engineering Science, National Cheng Kung University, Tainan 701, Taiwan, 2006.

[5] Gad-el-Hak, Mohamed, The MEMS HandBook, CRC Press, Cap 5, 2004.

[6] Senturia, Stephen, Mycrosystem Design, Kluwer Academic Publishers, Massachusetts Institute of Technology, 2003.