



CRICTE 2017

XXVIII Congresso Regional de Iniciação Científica e Tecnológica em Engenharia



FABRICAÇÃO DE UM TERMOCICLADOR AUTOMÁTICO

Rodrigo do Carmo Oliveira

Acadêmico do curso de Engenharia Elétrica da Universidade Federal do Pampa
rodrigo_ol@live.com

Dr. Jumar L. Russi

Professor/Pesquisador do curso de Engenharia Elétrica da Universidade Federal do Pampa
jumarrussi@unipampa.edu.br

Ms. Guilherme S. Silva

Professor/Pesquisador do curso de Engenharia Elétrica da Universidade Federal do Pampa
guilhermesilva@unipampa.edu.br

Resumo. Este artigo faz uma breve revisão a respeito da teoria envolvendo a técnica PCR, utilizada para a replicação de moléculas de DNA, e então apresenta alguns resultados experimentais da fabricação de um aparelho termociclador automático, utilizado para a aplicação desta técnica.

Palavras-chave: Termociclador, Peltier, PCR.

apresentam um preço alto (cerca de R\$ 30.000,00) por serem, em sua grande maioria, importados, o que também dificulta a manutenção dos mesmos.

A fabricação nacional deste aparelho facilitaria a aquisição e a manutenção do mesmo pelas instituições que o utilizam (Universidades, hospitais, laboratórios), além de reduzir o custo dos exames que utilizam o termociclador.

1. INTRODUÇÃO

Os diagnósticos de doenças hereditárias e de doenças infecciosas, testes de paternidade, tipagem de tecidos e a criação de organismos transgênicos são exemplos de exames e práticas muito importantes para a sociedade, sendo realizados comumente. O que todos eles têm em comum é a análise do ácido desoxirribonucleico (DNA) para obtenção dos resultados.

As ciências voltadas para a genética utilizam-se da técnica da Reação em Cadeia da DNA Polimerase, mais conhecida pela sigla PCR, pela qual pode-se fazer réplicas de determinada parte de uma amostra de DNA, réplicas estas necessárias para a realização dos exames.

Para que seja possível utilizar esta técnica, é necessário um equipamento eletrônico denominado termociclador automático, aparelho este que, no Brasil,

2. OBJETIVOS

O objetivo principal deste projeto é a criação de um aparelho termociclador, com o mesmo desempenho dos aparelhos comerciais, mas com menor custo e com manutenção facilitada.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A técnica PCR

A PCR, desenvolvida por Kary Mullis, nos anos 1980, revolucionou diversas áreas da biologia e da medicina, por permitir realizar várias cópias de um segmento específico de DNA, com rapidez e precisão em um tempo muito menor que as outras técnicas de replicação, tornando tal técnica uma das mais comuns utilizadas atualmente. A reação é repetida ciclicamente, *in vitro* (em um tubo de ensaio), através de uma série de alterações de temperatura, o que possibilita a

produção de muitas cópias da região de interesse. (*Museu da Vida* [2], adaptado.)

3.2 As etapas da PCR

Os principais ingredientes de uma reação PCR são a *Taq* Polimerase (enzima DNA polimerase tipicamente usada na PCR), *primers* (sequência curta de nucleotídeos que fornece um ponto de partida para a síntese de DNA, e que determina a região do DNA que será copiada), a amostra DNA molde e nucleotídeos (blocos que compõem o DNA).

Estes ingredientes são inseridos em um tubo, juntamente com cofatores de que a enzima precisa, e passam por repetidos ciclos de aquecimento e resfriamento que permitem que o DNA seja sintetizado. (*KhanAcademy* [1], adaptado.)

As etapas básicas são:

Desnaturação (96° C): Aquece-se a reação intensamente para desnaturar (separar) as fitas de DNA. Isso proporciona um molde de fita simples para a próxima etapa.

Anelamento (55-65° C): Resfria-se a reação para que os primers possam se ligar às suas sequências complementares no DNA molde de fita simples.

Extensão (72° C): Eleva-se a temperatura da reação para que a *Taq* polimerase estenda os primers, sintetizando novas fitas de DNA.

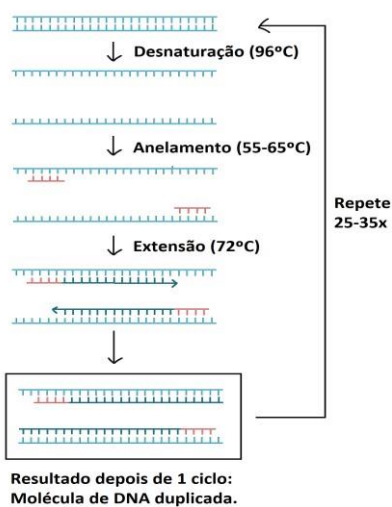


Figura 1. Descrição do comportamento da molécula alvo de DNA, durante os ciclos da PCR.

Este ciclo se repete de 25 à 35 vezes em uma reação típica de PCR, que geralmente ocorre em 2 à 4 horas, dependendo do comprimento da região de DNA a ser copiada, gerando de poucas até bilhões de cópias. (*KhanAcademy* [1], adaptado.)

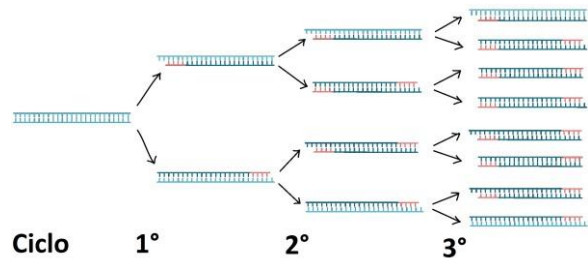


Figura 2. Resultado da replicação ao final de cada ciclo da PCR.

Para utilizar esta técnica, é necessário um equipamento eletrônico, denominado termociclador, que submete as amostras aos ciclos de calor da técnica PCR.

3.3 Termociclador

Termociclador, ou máquina de PCR, é um equipamento que automatiza o processo de amplificação de uma sequência específica de DNA a partir de uma pequena amostra. Este equipamento possui um bloco térmico com orifícios onde tubos com as amostras e reagentes são inseridos, e então isolados por uma caixa térmica.



Figura 3. Bloco térmico, com os tubos de amostra.

O termociclador eleva e reduz a temperatura do bloco nos ciclos de calor com tempo e temperaturas pré-programados, realizando os ciclos da PCR.

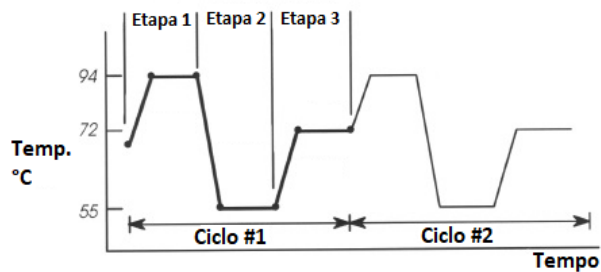


Figura 4. Ciclos de Calor, com as temperaturas às quais as amostras são expostas.

3.4 Célula Peltier

O termociclador tem como atuador os módulos ou células Peltier (também conhecidas como pastilhas termoelétricas), que são pequenas unidades que operam como bombas de calor. Sua operação é baseada no “Efeito Peltier”, onde há um efeito aquecedor ou resfriador quando uma corrente elétrica (corrente contínua) passa através de dois condutores.

O dissipador de calor é um item obrigatório, uma vez que pastilhas não “consomem” calor, mas o transferem de um local para outro. Sem o uso do dissipador, o módulo está sujeito ao superaquecimento, com o lado quente, superaquecido o lado frio também esquentará, e como consequência, o calor não é mais transferido.



Figura 5. Célula Peltier ligada ao dissipador de calor.

4. PROCEDIMENTOS E RESULTADOS

4.1 Definição do Problema

Na construção do protótipo, foi fabricado um bloco de alumínio para 25 amostras, instalado à uma célula Peltier do modelo TEC1-12715, acoplada ao dissipador, acoplado a uma ventoinha, conforme foto abaixo.

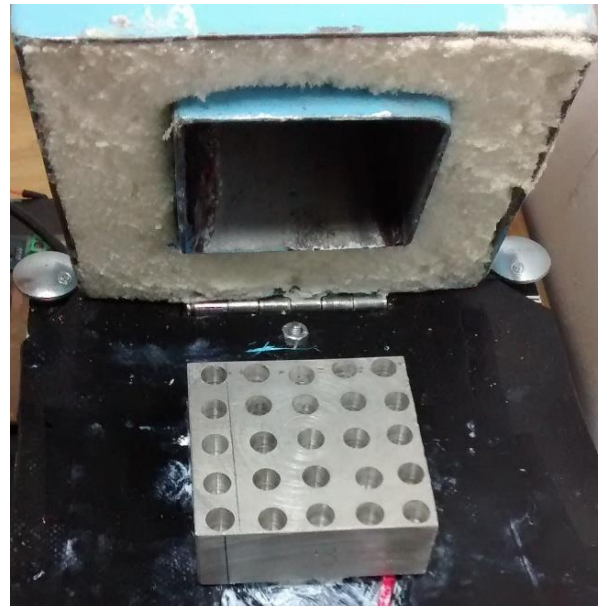


Figura 6. Bloco para amostras e caixa térmica do protótipo.

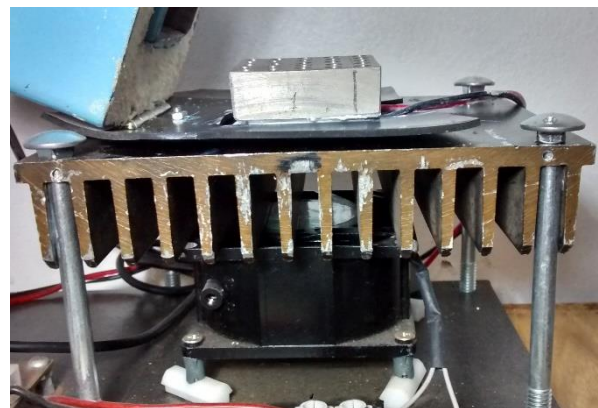


Figura 7. Sistema térmico do protótipo: ventoinha, dissipador, bloco para amostras e caixa térmica.

Tanto o dissipador utilizado, quanto a ventoinha, não são os ideais para este projeto

e foram utilizados por indisponibilidade dos ideais.

Com base nos parâmetros elétricos do módulo Peltier escolhido, foi desenvolvida uma fonte chaveada, de topologia Buck, para alimentar tal atuador, com sua saída ligada a uma ponte H, necessária para poder realizar a reversão do sentido da corrente de alimentação.

Junto à fonte, há um circuito de *driver*, utilizado para o acionamento do MOSFET. Instalaram-se também dois sensores de temperatura LM35, um sensor de corrente ACS712 e sensores de tensão.

Também foi inclusa uma placa Arduino Uno para o controle do protótipo, e foi utilizado o software LabView para o monitoramento e operação do mesmo.



Figura 8. Foto do protótipo do termociclador automático.

4.2 Resultados

O gráfico abaixo demonstra a rampa de aquecimento do protótipo.

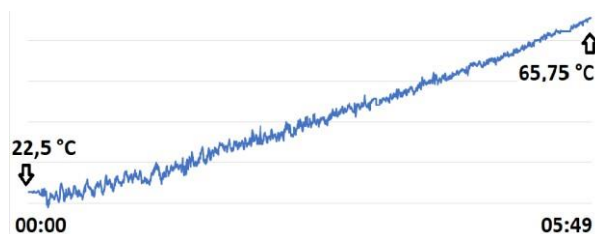


Figura 9. Gráfico mostrando a variação de temperatura com o tempo.

Com base nestes gráficos, verifica-se que o protótipo apresenta uma taxa de 0,25 °C/s para o aquecimento.

Devido ao uso de um dissipador não adequado, houve o superaquecimento da célula durante o processo de resfriamento, o que impossibilitou realizar a medição de seu desempenho nesta etapa.

5. CONCLUSÃO

O uso do dissipador e ventoinha não adequados prejudicou o funcionamento do protótipo, pois, com o superaquecimento do módulo Peltier, não foram atingidas as temperaturas ideais para o uso da técnica PCR, nem as velocidades de aquecimento e resfriamento adequadas.

Porém, verificou-se que, exceto pelo problema de superaquecimento, todo o sistema (controle, interface humano-máquina, circuitos eletrônicos) funcionaram conforme esperado. Logo, espera-se que, com a substituições das peças inadequadas, este protótipo atenda aos parâmetros dos demais termocicladores automáticos disponíveis em mercado.

REFERÊNCIAS

- [1] Museu da Vida, termociclador. Disponível em: <http://www.museudavida.fiocruz.br/index.php/museologico/objeto-emfoco//termociclador>. Acesso em 6 de julho de 2017.
- [2] KhanAcademy, Reação em cadeia da polimerase (PCR). Disponível em: <https://pt.khanacademy.org/science/biology/biotech-dna-technology/dnasequencingpcrpelectrophoresis/a/polymerase-chainreaction-pcr>. Acesso em 6 de julho de 2017.