

Моделирование перемешивания жидкости в микропробирках

Исламов А.И.*, Набиуллина К.Р.*, Михайленко К.И.**

*Уфимский университет науки и технологий, Уфа

**Институт механики им. Р.Р. Мавлютова УФИЦ РАН, Уфа

1. Введение

ПЦР (Полимеразная цепная реакция) — это самый распространённый метод увеличения объёма нуклеиновых кислот. ПЦР широко используется в молекулярной биологии для увеличения количества ДНК в образцах и проведения генетических анализов (секвенирования генома). Этап ускорения играет ключевую роль в процессе ПЦР, поскольку определяет начальные условия для последующей амплификации ДНК. Понимание и оптимизация этого этапа имеет большое значение для достижения точных и надёжных результатов.

В связи с необходимостью оптимизации процесса диагностики ДНК большое внимание уделяется сокращению продолжительности ПЦР. Существует несколько способов ускорения ПЦР. Наиболее широко используемым методом является проведение конвективной ПЦР. В этом случае изменение температуры в реакционной смеси достигается за счёт перемещения реакционного содержимого под действием тепловой конвекции. Движение жидкости осуществляется за счёт температурного градиента, возникающего из-за нагрева и (или) охлаждения некоторых точек микропробирки, в которой осуществляется ПЦР [1].

Исследование проблем ускорения полимеразной цепной реакции (ПЦР) остаётся актуальным и важным даже при наличии уже разработанных средств и методов. Экспериментальные проверки требуют больших трудозатрат, в связи с чем появляется необходимость в предварительном моделировании и проведение расчётов для дальнейших исследований.

В представленной работе на основе вычислительного моделирования рассматривается предположение, что помимо температурного градиента существенное влияние на время проведения ПЦР может оказывать также и угол наклона микропробирки, то есть изменение геометрии области конвекции относительно вертикали.

2. Математическая модель

Причиной возникновения тепловой конвекции является зависимость плотности жидкости или газа от температуры. При описании конвекции в несжимаемой жидкости наиболее популярной моделью является уравнение тепловой конвекции на основе коэффициента плавучести полученного в приближении Буссинеска, (уравнение Буссинеска) [2].

В потоках, сопровождающихся теплопередачей, свойства жидкости обычно зависят от температуры. Вариации могут быть небольшими, но все же быть причиной движения жидкости. Если изменение плотности невелико, то плотность можно рассматривать как постоянную в нестационарном и конвективном членах и рассматривать её как переменную только в поле внешних сил (гравитационном члене).

Математическая модель динамики несжимаемой вязкой жидкости в этом случае запишется в виде следующей системы:

— уравнение неразрывности

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = 0,$$

— уравнение сохранения импульсов

$$\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{u}\mathbf{u}) = -\frac{1}{\rho_0} (\nabla p - \rho \mathbf{g}) + \nabla \cdot (2\nu_{eff} \boldsymbol{\tau}),$$

здесь \mathbf{u} — вектор скорости; p — давление; ρ_0 — плотность жидкости при нормальных условиях (базовая плотность); \mathbf{g} — вектор ускорения свободного падения; $\boldsymbol{\tau}$ — тензор скорости деформации; ν_{eff} — коэффициент кинематической вязкости, включающий в себя в том числе турбулентную вязкость; плотность ρ в гравитационном члене вычисляется как линейная функция температуры

$$\rho \approx \rho_0 [1 - \beta(T - T_0)],$$

где β — коэффициент температурного расширения; T_0 — значение температуры для нормальных условий, при которых плотность жидкости имеет значение ρ_0 ; температура T вычисляется из уравнения теплопроводности с учётом конвекции

$$\frac{\partial T}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{u}T) = \nabla \cdot (\kappa \nabla T),$$

при этом диффузным членом с коэффициентом теплопроводности κ можно пренебречь.

3. Конечно-объёмная сетка и граничные условия

Нами моделируется конвекция в микропробирке, описываемой следующими параметрами: диаметр пробирки 4 мм, радиус закругления дна 1 мм, высота пробирки без учёта дна 7 мм; общая высота — 8 мм.

В качестве инструмента для решения поставленной задачи выбран пакет прикладных программ OpenFOAM (Open Source Field Operation And Manipulation). Это открытая интегрируемая платформа для численного моделирования задач механики сплошных сред [3]. Стандартная версия пакета OpenFOAM поставляется с многочисленными программами-решателями, утилитами и библиотеками. Кроме программ-решателей в состав пакета входят множество утилит, позволяющих генерировать и конвертировать расчётную сетку, задавать значения полей и многие другие.

При разработке конечно-объёмной сетки для вычислительного моделирования поставленной задачи авторы придерживались принципов, изложенных в [4]. Это значит, что построенная сетка должна быть по возможности ортогонализированной (то есть, углы между гранями конечных объёмов должны стремиться к 90°) и равномерной. Такой подход позволяет снизить вычислительную погрешность и, одновременно, ускорить вычисления за счёт возможности использовать больший шаг по времени.

Для рассматриваемой задачи в текущей постановке достаточным является решатель `buoyantBoussinesqPimpleFoam`. Указанный решатель предназначен для моделирования переходных процессов в несжимаемых потоках при учёте плавучести, описываемой в приближении Буссинеска. То есть описывает плавучесть как линейное изменение плотности жидкости при изменении температуры на основе эталонного значения температуры. Решатель особенно точен и эффективен, когда изменения плотности по сравнению с эталонной плотностью невелики.

Граничные условия для рассматриваемой задачи заданы в достаточно простом виде. По всем границам принято наличие твёрдой стенки, что означает применение граничного условия прилипания: нулевое значение для вектора скорости и нулевой градиент давления. Для температуры выделены две диагонально расположенные граничные области в нижней и верхней частях пробирки, в которых температура задаётся как величина с постоянным значением: область нагрева при $T_{hot}=400$ К и область охлаждения с температурой $T_{cold}=280$ К. На остальных границах для температуры задан нулевой градиент.

4. Результаты и обсуждение

Проведена серия вычислительных экспериментов с использованием описанных выше решателя, конечно-объёмной сетки и граничных условий. В качестве начальных условий в каждом расчёте использовалась неподвижная жидкость при постоянной температуре $T_0=300$ К. Расчёты сделаны при разных направлениях вектора ускорения свободного падения (угол наклона микропробирки) от 0° (ось пробирки вертикальна) до 90° (ось пробирки горизонтальна). При этом поворот микропробирки осуществляется таким образом, что зона нагрева располагается внизу закругления острого конца пробирки, а зона охлаждения — наверху противоположного конца.

Результаты моделирования продемонстрированы на Рис. 1–2.

На Рис. 1 показаны линии тока для вертикально размещённой микропробирки (Рис. 1(а)) и при наклоне в 70° , когда скорость циркуляции жидкости максимальна (Рис. 1(б)). На рисунке цвет линий характеризует температуру жидкости, а длина — скорость.

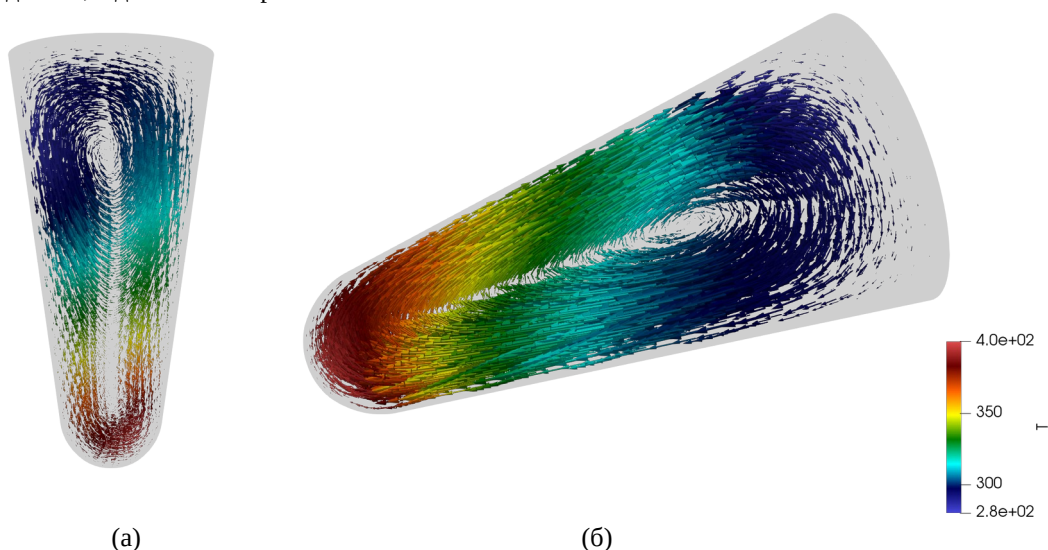


Рис.1. Визуализация линий тока для случаев когда пробирка не наклонена (а) и в наклонном положении с углом наклона 70° (б)

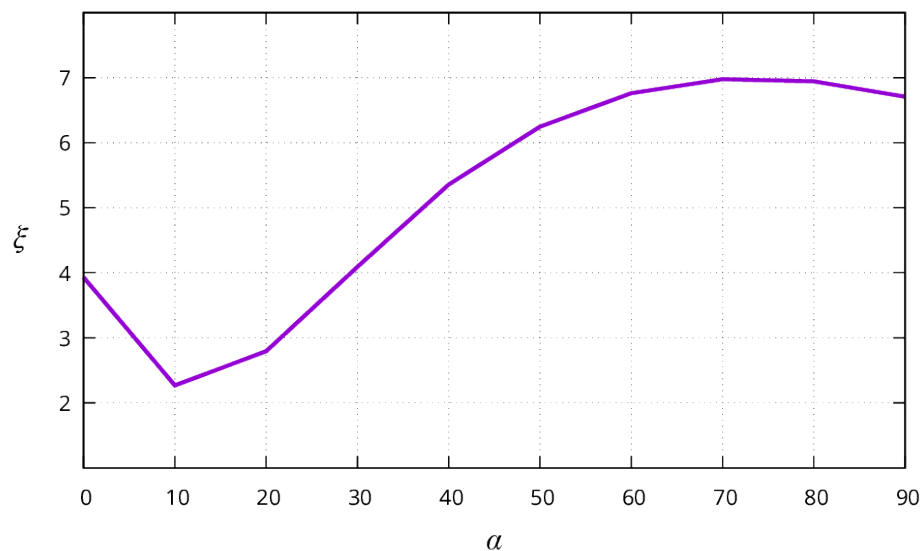


Рис. 2. Зависимость уровня перемешивания от угла наклона пробирки

Для анализа интенсивности перемешивания жидкости, важного для задачи ускорения ПЦР, нами введено понятие коэффициента перемешивания ξ . Данный коэффициент рассчитывается из результатов моделирования как сумма произведений объёма и значения модуля скорости для всех конечных объемов расчётной области. На Рис. 2. представлена зависимость $\xi(\alpha)$, то есть коэффициента перемешивания от угла наклона микропробирки.

Можно видеть, что для рассматриваемого типа пробирки наилучший результат наблюдается для больших углов наклона $\alpha \in [60, 80]$. Следует отметить, что такой результат согласуется с экспериментальными данными, полученными в [1].

5. Заключение

Была рассмотрена трёхмерная модель микропробирки в условиях вынужденной температурной конвекции. Произведены расчёты с использованием встроенного решателя и проведена оценка качества перемешивания в зависимости от угла наклона пробирки.

По результатам исследования было выявлено существенное влияние угла наклона на результаты, что говорит нам о том, что предположение, выдвинутое в начале статьи, было верным. Развитие данной работы предполагает дальнейшее сравнение с реальными экспериментальными данными и доработку модели с добавлением уравнений химических реакций.

Список литературы

- [1] Garafutdinov R.R., Chemeris D.A., Sakhabutdinova A.R., Moiseev K.V., Urmancheev S.F., Mikhaylenko C.I., Privalov L.Yu., Chemeris A.V. Convective polymerase chain reaction in standard microtubes // Analytical Biochemistry. 2022. V. 641. 114565.
- [2] Boussinesq J. Théorie de l'écoulement tourbillonnant et tumultueux des liquides dans les lits rectilignes a grande section. Vol. 1. Gauthier-Villars. 1897. 64 p.
- [3] OPENFOAM® <https://openfoam.org/> (дата обращения 10.04.2024).
- [4] Mikhaylenko C.I. Building a finite-difference mesh and selecting a turbulence model for numerical simulations of a vortex tube in OpenFOAM software // Journal of Physics: Conference Series. 2020. V. 167. 012021.